

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DEISI ALTMAJER VAZ

**CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DE ÁCIDOS
VOLÁTEIS DE CADEIA CURTA NA PRESENÇA DO
PENTACLOROFENOL**

Prof. Dr. Agenor Furigo Jr.
ORIENTADOR

Prof^a. Dr^a. Selene M. A. Guelli Ulson de Souza
CO - ORIENTADOR

Prof. Dr. Hugo Moreira Soares
CO – ORIENTADOR

Florianópolis - SC
Maior/2000

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

DEISI ALTMAJER VAZ

**CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DE ÁCIDOS
VOLÁTEIS DE CADEIA CURTA NA PRESENÇA DO
PENTACLOROFENOL**

**Dissertação apresentada ao Curso
de Pós-Graduação em Engenharia
Química, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre
em Engenharia Química.**

Prof. Dr. Agenor Furigo Jr.
ORIENTADOR

Prof^a. Dr^a. Selene M. A. Guelli Ulson de Souza
CO - ORIENTADOR

Prof. Dr. Hugo Moreira Soares
CO – ORIENTADOR


Florianópolis - SC
Maior/2000


Cinética de Degradação Anaeróbia de Ácidos Voláteis de Cadeia Curta na Presença do Pentaclorofenol

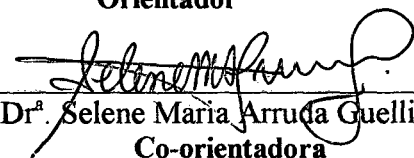
Por

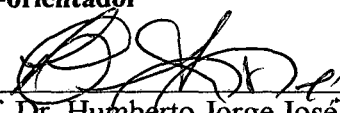
Deisi Altmajer Vaz

Dissertação julgada para obtenção do título de **Mestre em Engenharia Química**, área de concentração **Desenvolvimento de Processos Químicos e Biotecnológicos** e aprovada em sua forma final pelo Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina.



Prof. Dr. Agenor Fúrigo Júnior
Orientador

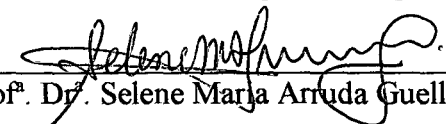

Prof. Dr. Hugo Moreira Soares
Co-orientador

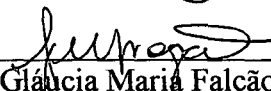

Prof.ª Dr.ª Selene Maria Arruda Guelli Ulson de Souza
Co-orientadora

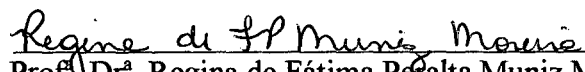

Prof. Dr. Humberto Jorge José
Coordenador do CPGENQ


Banca Examinadora:


Prof. Dr. Agenor Furigo Júnior


Prof.ª Dr.ª Selene Maria Arruda Guelli Ulson de Souza


Prof.ª Dr.ª Gláucia Maria Falcão de Aragão


Prof.ª Dr.ª Regina de Fátima Peralta Muniz Moreira


Prof.ª Dr.ª Rosângela Bergamasco
Membro externo (UEM)

Florianópolis, 26 de Maio de 2000

*"O conhecimento amplia a vida.
Conhecer é viver uma realidade
que a ignorância impede
desfrutar."*

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Prof. Agenor Furigo Jr., Profa. Selene M. A. Guelli Ulson de Souza e Prof. Hugo Moreira Soares, pelo apoio e conhecimentos transmitidos.

À doutoranda Martha da Almeida Prado Montenegro e à Prof. Dr. Rosana Vazoller, pela oportunidade oferecida em desenvolver este trabalho em conjunto, bem como a compreensão e o grande número de informações colocadas à disposição.

Ao Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, bem como ao Departamento de Engenharia Sanitária da UFSC, pelas instalações e recursos disponibilizados para a realização dos experimentos.

Aos professores e funcionários dos laboratórios LPDT, ENGBIO e LIMA da UFSC, e em especial a Angelina, por todo o auxílio prestado.

Aos membros da Comissão Examinadora deste trabalho, pela atenção e sugestões realizadas.

À CAPES pela concessão de bolsa de estudos.

À minha família e à meu namorado, Marcelo Fonseca Xavier, pela paciência, carinho e incentivo oferecidos constantemente.

À Deus por ter colocado em meu caminho pessoas maravilhosas como Fátima Bassetti, Oneida Barros, Eunice Helena P. Oliveira, Alessandra Mara Rotta de Oliveira, Gabriela Silvia Schrank e à todos aqueles que, mesmo por trás dos “bastidores”, de uma forma ou de outra, participaram na realização deste trabalho.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS	p. viii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS	x
RESUMO	xii
SUMMARY	xiii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1. Generalidades do Processo Anaeróbio	4
2.2 Cinética	8
2.2.1 Microcinética	9
2.2.1.1 Estequiometria	9
2.2.1.2 Reações bioquímicas	10
2.2.1.2.1 Degradação da matéria orgânica complexa	10
2.2.1.2.2 Degradação do metanol	12
2.2.1.2.3 Degradação do pentaclorofenol	15
2.2.1.3 Termodinâmica	18
2.2.1.4 Fatores ambientais	20
2.2.1.4.1 Temperatura	21
2.2.1.4.2 Nutrientes	22
2.2.1.4.3 pH e alcalinidade	22
2.2.1.4.4 Toxicidade e inibição	23
2.2.1.5 Modelos cinéticos	25
2.2.1.5.1 Modelos que não levam em conta a inibição	27
2.2.1.5.2 Modelos que levam em conta a inibição	31
2.2.2 Macrocinética	34
3. MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1 Microorganismos	37

3.2 Substratos e meios de cultura.....	38
3.3 Métodos de medida e cálculo de parâmetros.....	38
3.3.1 Quantidade e composição do biogás	39
3.3.2 Ácidos orgânicos voláteis.....	40
3.3.3 Sólidos voláteis	41
3.3.4 Demanda Química de Oxigênio	41
3.3.5 Determinação dos parâmetros cinéticos	42
3.3.6 Cálculo da Inibição	43
3.3.7 Cálculo da quantidade de biogás teórico	45
3.4 Procedimento experimental	46
3.4.1 Teste de Toxicidade Anaeróbio	46
3.4.2 Teste cinético de degradação de uma mistura de ácidos voláteis	46
3.4.3 Teste cinético de degradação de ácidos voláteis.....	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	50
4.1 Análises preliminares: análise da influência do PCP sobre a atividade de uma comunidade microbiana anaeróbia	51
4.2 Artigo 1: Estudo da cinética de degradação anaeróbia de uma mistura de ácidos voláteis em presença de pentaclorofenol	60
4.3 Artigo 2: Estudo da cinética de degradação anaeróbia de ácidos voláteis em presença de pentaclorofenol.....	76
5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES	94
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
ANEXOS	105

LISTA DE TABELAS

	p.
Tabela 1 – Tempos de duplicação de grupos tróficos responsáveis pela decomposição anaeróbia de açúcares a 35 °C	6
Tabela 2 – Reações de formação do ácido acético	12
Tabela 3 – Reações de formação do metano	12
Tabela 4 – Formação do metano e acetato a partir do metanol.....	14
Tabela 5 – Algumas reações de oxidação e redução importantes do processo anaeróbio.	19
Tabela 6 – Modelos cinéticos empregados na digestão anaeróbia.....	27
Tabela 7 –Valores encontrados para os parâmetros cinéticos em cada etapa do processo anaeróbio a temperaturas mesofílicas	31
Tabela 8 – Alguns modelos cinéticos empregados na digestão anaeróbia sob condições de inibição	32
Tabela 9 – Concentração dos ácidos voláteis e metanol empregados no teste de toxicidade.	46
Tabela 10 - Quantidade adicionada das soluções estoques e de lodo nos diversos ensaios.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do metabolismo bacteriano.....	p. 5
Figura 2 – Representação esquemática do conceito de interações entre os fenômenos de transporte e a biocinética.....	9
Figura 3 - Esquema do processo anaeróbio	11
Figura 4 - Possíveis rotas de formação do metano a partir do metanol	13
Figura 5 - Destino final do metanol em biorreatores anaeróbios.....	15
Figura 6 - Rota de degradação do PCP segundo HENDRIKSEN <i>et al.</i> (1992).....	18
Figura 7 – Relações entre concentração de H ₂ e variação de energia livre de Gibbs.....	20
Figura 8 - Influência da temperatura na atividade relativa de produção de metano	21
Figura 9 – Representação gráfica da expressão de MONOD	28
Figura 10 - Exemplo de diagrama de blocos para um reator de manta de lodo e fluxo ascendente utilizado na modelagem hidrodinâmica	35
Figura 11 – Desenho esquemático do sistema utilizado no reator híbrido, de acordo com SOARES (1998) citado por MONTENEGRO (1999).....	37
Figura 12 – Sistema utilizado para a medida de biogás de acordo com SOARES (1998) citado por MONTENEGRO <i>et al.</i> (1999)	39
Figura 13 – Montagem do teste cinético	48

SIMBOLOGIA

μ	velocidade específica de crescimento, (T^{-1})
μ_m	velocidade específica de crescimento (T^{-1})
ΔG	variação da energia livre de Gibbs
a	coeficiente linear da reta
ATA	Teste de Toxicidade Anaeróbio, do inglês <i>Anaerobic Toxicity Assay</i>
AGV	ácidos graxos voláteis
b	coeficiente angular da reta
C	concentração ($M.L^{-3}$)
C_{MPD}	concentração do material particulado degradável ($M.L^{-3}$)
C_P	concentração do produto ($M.L^{-3}$)
C_S	concentração do substrato ($M.L^{-3}$)
$C_{S,i}$	concentração inicial do substrato ($M.L^{-3}$)
$C_{S,F}$	concentração final do substrato ($M.L^{-3}$)
C_{PCP}	concentração do pentaclorofenol ($M.L^{-3}$)
C_X	concentração celular ($M.L^{-3}$)
C_i	concentração do substrato inibidor ($M.L^{-3}$)
C_i^*	concentração do substrato inibidor para qual a atividade cessa ($M.L^{-3}$)
CSTR	reator de mistura completa, do inglês <i>Continuous Stirred Tank Reactor</i>
DQO	demanda química de oxigênio ($M.L^{-3}$)
I	grau de inibição
I_x	grau de inibição dado em termos de fração de conversão do substrato
I_{v_0}	grau de inibição dado em termos de velocidade inicial de conversão do substrato.
K	velocidade específica máxima de utilização do substrato
k_d	coeficiente de decaimento (T^{-1})
k_0	constante da cinética de ordem zero ($M.L^{-3}.T^{-1}$)

k_1	constante da cinética de primeira ordem (T^{-1})
k_2	constante da cinética de segunda ordem ($L^3.M^{-1}.T^{-1}$)
K_s	constante de saturação ($M.L^{-3}.T^{-1}$)
K_i	constante de inibição ($M.L^{-3}$)
K_m	constante de Michaelis ($M.L^{-3}$)
k_h	constante de velocidade de hidrólise ($M.L^{-3}$)
L	dimensão de comprimento
m	parâmetro
M	dimensão de massa
n	parâmetro de ajuste
PCP	pentaclorofenol
PFR	reator de fluxo pistonado, do inglês <i>plug flow reactor</i>
q_p	velocidade de produção do produto ($M.L^{-3}.T^{-1}$)
r	velocidade de reação ($M.L^{-3}.T^{-1}$)
r_d	velocidade de decaimento da biomassa ($M.L^{-3}.T^{-1}$)
r_s	velocidade de utilização do substrato ($M.L^{-3}.T^{-1}$)
r_h	velocidade de hidrólise ($M.L^{-3}.T^{-1}$)
r_G	velocidade de produção de biogás ($M.L^{-3}.T^{-1}$)
SSV	sólidos suspensos voláteis
T	dimensão de tempo (T)
UASB	reator anaeróbio de manta de lodo, do inglês <i>Upflow Anaerobic Sludge Blanket</i>
V	volume (L^{-3})
V_d	volume morto de um reator (L^{-3})
V_{max}	velocidade máxima de reação
X	grau de conversão de uma reação
X_o	grau de conversão do substrato no ensaio controle
X_{PCP}	grau de conversão do substrato no ensaio contendo PCP
$Y_{x/s}$	fator de conversão de substrato a microorganismos (m SSV/ m DQO)

RESUMO

O presente trabalho estuda a influência do pentaclorofenol (PCP) sobre a cinética da degradação anaeróbia dos ácidos voláteis de cadeia curta (ácido acético, propiônico e butírico). Para tal, foram desenvolvidos ensaios em sistema descontínuo. Primeiramente, com o objetivo de identificar as concentrações inibitórias de PCP, analisou-se os resultados de um Teste de Toxicidade Anaeróbio (ATA), comparando-se as diferentes formas de expressar a inibição provocada no sistema. Após selecionadas as concentrações de PCP de interesse, avaliou-se a cinética de degradação de uma mistura de ácidos orgânicos e metanol, co-substratos importantes do processo de desalogenação redutiva. Por fim, realizou-se um estudo da cinética de degradação de cada um dos ácidos separadamente. Observou-se que, nas condições ambientais testadas, a influência do PCP sobre a produção de biogás aumenta com o aumento de sua concentração no meio e que as cinéticas de inibição clássicas da literatura não conseguem representar o fenômeno a contento. No que se refere à degradação dos ácidos voláteis, verificou-se que o PCP exerce uma influência diferenciada na degradação de cada um dos ácidos. Os microorganismos acetogênicos degradadores de ácido propiônico são os únicos que sofrem uma influência considerável do PCP, sendo esse efeito uma função da concentração do inibidor no meio. De uma forma geral, tanto para os ácidos testados individualmente, como para a mistura de ácidos, uma cinética de primeira ordem representa bem o comportamento do sistema, sendo que a constante de velocidade é uma função da concentração do tóxico. Porém, a cinética de degradação do ácido propiônico não foi representada pelos modelos testados, uma vez que os resultados experimentais mostraram que pode haver, além do consumo, geração de propionato. Nos ensaios contendo PCP, parte da DQO convertida é transformada em produtos intermediários que não os acompanhados, uma vez que a produção de biogás é inferior aos ensaios controles com conversões semelhantes de substrato.

SUMMARY

The present work studies the influence of the pentachlorophenol (PCP) on the kinetics of the anaerobic degradation of the volatile acids (acetic, propionic and butyric acid). For such, experiments were carried out in discontinuous system. Firstly, with the objective of identifying the inhibit concentrations of PCP, it was analyzed the results of an Anaerobic Toxicity Assay (ATA), comparing the different forms of expressing the system inhibition. After having selected the PCP concentrations range, it was evaluated the kinetics of degradation of a mixture of organic acids and methanol, important substrates of the reductive dechlorination process. Finally, it was separately studied the degradation kinetics for each one of the acids. It was observed that, for the tested environmental conditions, the influence of PCP on the biogas production increases with the augment of its concentration and that the classic inhibition kinetics doesn't represent the phenomenon. About the degradation of the volatile acids, it was verified that PCP exhibits a differentiated influence on the degradation of each one of the acids. The acetogenic microorganisms that degradate propionic acid are the only ones that suffer a considerable influence of PCP, being that effect a function of the inhibitor concentration. In a general way, for the acids tested individually, as well as for the mixture of acids, a first order kinetics represents the behavior of the system well, and the rate constant is a function of the PCP concentration. However, the kinetics of degradation of the propionic acid was not represented by the tested models, once the experimental results showed that it can have, besides the consumption, propionate generation. The testes with PCP showed that a part of the converted COD is transformed to the intermediary products that were not measured, once the biogas production is inferior to the control assays with similar substratum conversions.

1. INTRODUÇÃO

Os primeiros reatores anaeróbios utilizados no tratamento de efluentes eram sistemas com baixa eficiência de remoção de poluentes, uma vez que pouco contato era promovido entre a biomassa e o material orgânico. Em consequência, eram necessários longos tempos de retenção e reatores extremamente grandes. Entretanto, no início dos anos 60, com o surgimento dos reatores de contato, no qual o efluente de um reator de mistura passa por um decantador externo, os processos anaeróbios começaram a se tornar competitivos com sistemas aeróbios tradicionais.

Atualmente, os biorreatores modernos, também conhecidos como sistemas de alta taxa ou de segunda geração, caracterizam-se pela presença de algum mecanismo de retenção de biomassa que garante um aumento no tempo de retenção celular, levando a uma redução no tempo de retenção hidráulico. Estes sistemas são classificados, segundo a forma de disposição da biomassa, em digestores anaeróbios com meio suporte inerte de enchimento, digestores anaeróbios sem meio suporte, e ainda combinações de ambos.

Desta forma, embora o tratamento anaeróbio tenha se firmado há muitos anos como uma solução clássica para a estabilização de lodo, apenas recentemente sua aplicação foi estendida ao tratamento de efluentes líquidos. O avanço da digestão anaeróbia tem sido possível graças aos progressos realizados nas áreas de microbiologia, cinética e estequiometria, além da aplicação dos conceitos e métodos de projeto característicos da engenharia. Entretanto, deve-se notar que ainda há muito a se pesquisar, já que os atuais conhecimentos são limitados.

O insucesso da utilização dos sistemas anaeróbios no passado foi devido, em parte, ao desconhecimento das interações existentes entre uma grande variedade de compostos tóxicos inibidores (sendo alguns ainda desconhecidos), substratos e microorganismos. Assim, com o conhecimento

adquirido com as pesquisas realizadas, padronização de metodologias e troca de informações, vem sendo possível cada vez mais compreender o processo de digestão anaeróbia e aplicá-lo na resolução dos problemas reais.

Atualmente, a faixa de problemas ambientais existentes é imensa e abrange todos os aspectos do cotidiano. A contaminação de ecossistemas naturais por compostos xenobióticos, tais como organoclorados, tem sido alvo de vários trabalhos.

Dentre os organoclorados, o pentaclorofenol (PCP) destaca-se pela sua elevada estabilidade e toxicidade. O PCP pode ser degradado tanto por processos abióticos (do tipo volatilização, adsorção e fotodecomposição), quanto por processo bióticos. A verificação da degradação anaeróbia do PCP em ambientes naturais, aliada à sua difícil degradação em sistemas aeróbios, fez da digestão anaeróbia o processo biológico mais estudado no que se refere à descloração do PCP. Embora o uso do PCP como agrotóxico tenha sido proibido no Brasil em 1985 (Portaria nº 329 do Ministério da Agricultura), muitas áreas encontram-se contaminadas. Além disso, o PCP é gerado como subproduto no processo de branqueamento de celulose nas indústrias de papel, na unidade de coqueria de indústrias siderúrgicas e na desinfecção de águas contendo fenóis com cloro ou hipoclorito de sódio, dentre outros.

Neste contexto, a presente pesquisa almeja ampliar os conhecimentos existentes em processos anaeróbios, principalmente no que se refere ao estudo da cinética de degradação dos ácidos orgânicos de cadeia curta (acético, propiônico e butírico) na presença do pentaclorofenol. Esses ácidos utilizados são intermediários importantes dos processos de degradação de substratos complexos, além de atuarem como estimuladores do processo de descloração do PCP.

Como objetivos específicos, pretende-se: (i) identificar a faixa de concentração de pentaclorofenol inibitória aos microorganismos; (ii) estudar as diferentes formas de expressar a inibição; (iii) avaliar a cinética de degradação de uma mistura de ácidos orgânicos; (iv) avaliar a cinética de degradação de cada um dos ácidos voláteis separadamente; (v) estabelecer balanços materiais para a produção de biogás.

Cabe ressaltar que, esta pesquisa está ligada à linha de pesquisa "Degradação Anaeróbia de Compostos Organoclorados" do Departamento de

Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC-USP) e está de acordo com as intenções de realização de pesquisas entre Programas de Pós-graduação em Engenharia Química da UFSC e de ciências da Engenharia Ambiental da EESC-USP, inserindo-se ao projeto de pesquisa de Doutorado da Bióloga Martha de Almeida Prado Montenegro, que está sendo realizado no Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC.

Este trabalho está dividido em capítulos. No Capítulo 2 é efetuada uma revisão bibliográfica a respeito do tema da pesquisa. No Capítulo 3 são relatados os materiais utilizados e metodologias adotadas. No Capítulo 4 são expostos os principais resultados obtidos e a análise dos resultados. No Capítulo 5 são apresentadas as conclusões do trabalho desenvolvido e sugestões para trabalhos futuros.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo são tratados os principais assuntos relacionados ao escopo da presente pesquisa.

Inicialmente, são abordadas as generalidades do processo anaeróbio. A seguir são relatados os aspectos referentes à cinética das reações. São comentadas na microcinética a estequiometria das reações bioquímicas, a termodinâmica da digestão anaeróbia, a cinética a nível de microorganismos e as condições ambientais requeridas. Na macrocinética são discutidos os fatores referentes à fluidodinâmica e aos fenômenos de transferência de massa entre as fases e partículas.

2.1 GENERALIDADES DO PROCESSO ANAERÓBIO

A digestão anaeróbia é um processo de degradação sucessiva da matéria orgânica, em ausência de ar, que ocorre por ação de uma complexa comunidade de populações microbianas de características fisiológicas distintas, que atuam de forma sintrófica. Trata-se de uma cadeia alimentar, onde o produto formado por uma população, no metabolismo para a aquisição de energia, é o substrato para uma outra, e cuja etapa terminal se caracteriza pela produção de uma mistura de gases composta por metano e dióxido de carbono, principalmente. Essa mistura gasosa é denominada, usualmente, de biogás (HIRATA, 1990 citado por CRAVEIRO, 1994).

ANDRADE (1995) descreve o processo de digestão anaeróbia como um ecossistema onde diversas comunidades de microorganismos anaeróbios,

principalmente bactérias, operam coordenadamente, interagindo para converter a matéria orgânica em produtos finais estáveis, além de alguma biomassa.

De acordo com HAYES *et al.* (1990), a composição típica do biogás (base seca) consiste de 55 – 65 % de metano (CH_4), 35 – 45 % de dióxido de carbono (CO_2) e menos de 1 % de hidrogênio (H_2) e sulfeto de hidrogênio (H_2S).

A degradação da matéria orgânica refere-se à utilização dos substratos orgânicos como fonte de energia (catabolismo) e fonte de matéria para síntese de novas células (anabolismo) pela comunidade microbiana. A Figura 1 mostra um esquema representativo do metabolismo bacteriano (VAN HAANDEL e LETTINGA, 1994).

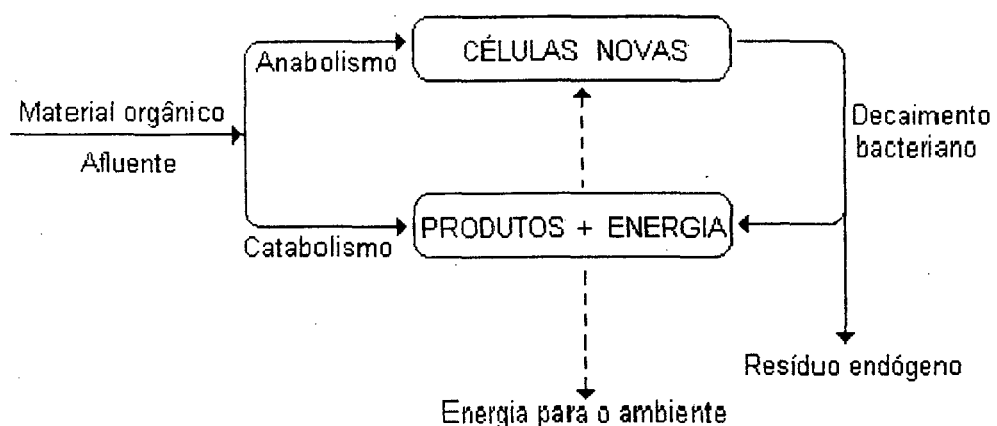


Figura 1 – Esquema do metabolismo bacteriano.
Fonte: Adaptado de HAANDEL e LETTINGA (1994).

Segundo VAN HAANDEL e LETTINGA (1994), os processos de anabolismo e catabolismo ocorrem simultaneamente e são completamente interdependentes. Enquanto que no catabolismo há liberação energia, o anabolismo requer energia para síntese celular.

O número de espécies de microrganismos que coexistem em sistemas anaeróbios é muito grande. Entretanto, segundo ANDRADE (1995), os principais microrganismos empregados nos processos anaeróbios são as bactérias. A capacidade de uma bactéria anaeróbia decompôr um determinado substrato irá depender principalmente de seu sistema enzimático.

As condições do meio no qual as bactérias se encontram afetam o desempenho do processo de degradação da matéria orgânica. Para cada fator, como composição do meio, temperatura, *pH*, etc., existem faixas consideradas ótimas para seu desenvolvimento e faixas prejudiciais, causadoras de efeitos inibitórios ou tóxicos sobre as bactérias (NASCIMENTO, 1996).

De uma forma sucinta, HENZE e HARREMÕES (1983) classificam as bactérias que participam na degradação anaeróbia em dois grupos: as bactérias formadoras de ácidos e as bactérias formadoras de metano. Entretanto, cada um destes grupos pode ser subdividido em outros grupos.

Para HIRATA (1997), os principais grupos de bactérias envolvidos nos sistemas anaeróbios são quatro: as hidrolíticas fermentativas, acetogênicas produtoras de hidrogênio, as homoacetogênicas e as metanogênicas. Entretanto, HIRATA (1997) também destaca a existência de outros grupos de bactérias anaeróbias, tais como os produtores de propionato a partir de acetato, CO_2 e H_2 , os microorganismos capazes de sintetizar os ácidos orgânicos de cadeias mais longas e as bactérias redutoras de sulfato.

Na Tabela 1 estão mostrados exemplos de tempos de duplicação de alguns dos grupos tróficos responsáveis pela degradação de açúcares a 35°C .

Tabela 1 - Tempos de duplicação dos grupos tróficos responsáveis pela decomposição anaeróbia de açúcares a 35°C .

GRUPO	TEMPO DE DUPLICAÇÃO
Fermentativas que produzem ácido	30 minutos
Metanogênicas que consomem H_2 ou formiato	6 horas
Acetogênicas que consomem butirato	1,4 dias
Acetogênicas que consomem propionato	2,5 dias
Metanogênicas que consomem acetato	2,6 dias

Fonte: Adaptado de VINAS (1994).

Com relação aos aspectos bioquímicos, NAGAI e NISHIO (1989) comentam que as metanogênicas são consideravelmente diferentes das bactérias heterotróficas e microorganismos eucarióticos usuais. As metanogênicas são extremamente sensíveis às variações das condições ambientais, apresentam baixa velocidade de crescimento e ocupam papel vital

sobre o processo, mantendo a concentração de H_2 no sistema a níveis adequados.

A utilização dos processos anaeróbios para o tratamento de resíduos possui várias vantagens sobre os processos aeróbios, tais como: baixa produção de lodo, poucos requerimentos nutricionais à fermentação, baixo ou nenhum gasto de energia, aplicação de elevadas cargas orgânicas, recuperação de potencial de energia na forma de metano (biogás), degradação de certos compostos tóxicos, tais como halogenados recalcitrantes à degradação aeróbia, habilidade em preservar a atividade do lodo por longos períodos sob ausência de alimentação (VAZOLLER, 1999).

De acordo com SOTO *et al.* (1992), os processos anaeróbios se converteram em um dos procedimentos mais adequados para o tratamento de efluentes, especialmente aqueles com alta concentração de carga orgânica.

2.2 CINÉTICA

Efetuar o estudo cinético de um dado fenômeno ou processo, significa estudar a evolução no tempo deste processo, através da quantificação de certas grandezas que definem adequadamente esta evolução (FURIGO, 1999).

Segundo PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ (1991), a cinética microbiana ocupa um papel central no desenvolvimento e operação dos sistemas de tratamento anaeróbio. Baseada na bioquímica e microbiologia, a cinética provê uma base para análise, controle e projeto do processo. A cinética também está relacionada com os fatores ambientais e operacionais que afetam as velocidades de conversão.

ALEXANDER (1994) comenta que a informação sobre a cinética é extremamente importante porque informa a variação da concentração do composto químico ao longo do tempo, permite a predição dos níveis de concentração que estarão presentes em um tempo futuro e possibilita avaliar se o tóxico será eliminado antes de ser transportado a um local no qual humanos, animais ou plantas poderão estar expostos.

A Figura 2 mostra uma representação esquemática das interações existentes entre os fenômenos de transporte (transferência de calor, tempo de residência, distribuição dos compostos, etc.) e a biocinética (velocidades específicas de crescimento, consumo de substratos, produção de calor, produtos, etc.). Segundo MOSER (1988), as propriedades do meio (pH, temperatura, potencial redox, etc.) constituem-se uma ligação entre os fenômenos de transporte e a biocinética.

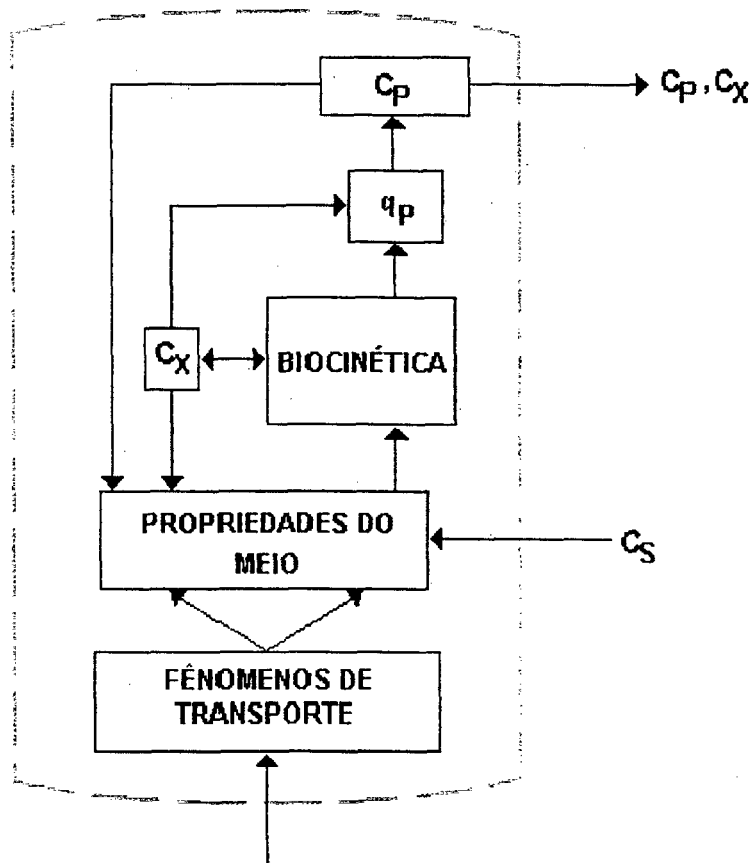


Figura 2 – Representação esquemática do conceito de interações entre os fenômenos de transporte e a biocinética.

Fonte: Adaptado de REUSS *et al.* (1980 citado por MOSER, 1981).

Devido à complexidade dos processos anaeróbios, os aspectos macrocinéticos e microcinéticos serão abordados separadamente.

2.2.1 MICROKINETICA

2.2.1.1 Estequiometria

Na estequiometria três pontos são discutidos por LEMA *et al.* (1991): (i) geralmente, a maior parte dos reagentes estão disponíveis na fase líquida, entretanto uma fração pode estar na forma de sólido suspenso; (ii) um importante grupo de reações são de consumo, nas quais há um aumento no número de moles (quantidade de moléculas): em algumas etapas, os produtos gerados são gases, enquanto que em outras, os produtos permanecem na fase

líquida; a velocidade de remoção destes produtos gasosos pode limitar a eficiência do processo; (iii) o processo de digestão anaeróbio segue, em média, um esquema de reações múltiplas e complexas, que podem ser consideradas em série, cuja a distribuição dos produtos será dependente de alguns fatores, como condições de reação (pH, temperatura, presença de inibidores, etc.), regime hidráulico utilizado (um regime do tipo pistonado pode produzir distribuição de produtos diferente de um regime de mistura completa), condições ambientais no interior das partículas, local onde as reações de conversão ocorrem.

2.2.1.2 Reações bioquímicas

2.2.1.2.1 Degradação da matéria orgânica complexa

Segundo HENZE e HARREMOËS (1983), a degradação da matéria orgânica complexa (carboidratos, lipídeos e proteínas) ocorre por meio de uma série de reações sequenciais e paralelas, biocatalisadas por diferentes espécies de microorganismos. O conjunto de todas as reações que ocorrem ao longo do processo anaeróbio pode ser expresso em termos de uma única reação global, cuja velocidade é determinada pelas velocidades das reações mais lentas (etapas limitantes).

Basicamente, a digestão anaeróbia pode ser considerada como um processo formado por quatro etapas: hidrólise, acetogênese, acidogênese e metanogênese.

VIÑAS (1994) relata que a digestão anaeróbia pode ser representada pela Figura 3, desde que algumas considerações sejam efetuadas:

(I) não existam influências dos processos macrocinéticos, assim como do tipo de reator;

(II) haja um contato estreito entre o substrato e os microorganismos;

(III) exista uma ligação estreita entre os microorganismos;

(IV) haja uma relação adequada entre as velocidades de consumo de substrato e concentrações de microorganismos capazes de degradar, de modo a não haver acúmulo de compostos nas diversas etapas;

(V) as condições ambientais sejam adequadas para o acontecimento das reações.

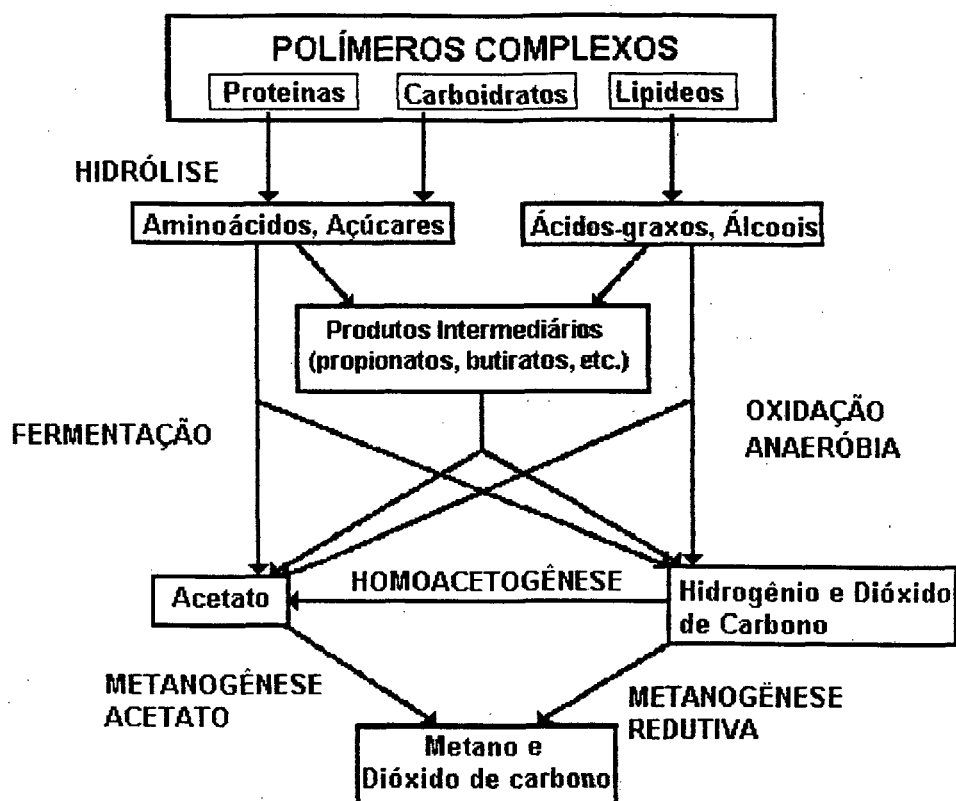


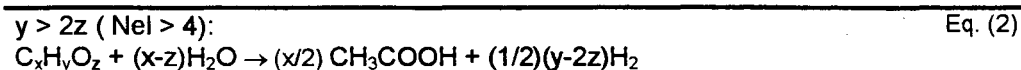
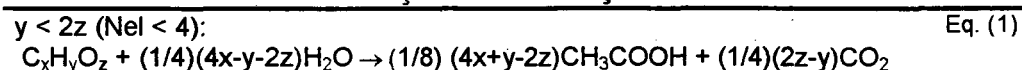
Figura 3 – Esquema do processo anaeróbico.

Fonte: Adaptado de PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ (1991).

De acordo com CARMO (1998), na primeira etapa do processo, a hidrólise, o material orgânico complexo (solúvel e em suspensão) é convertido pela ação de enzimas extracelulares a compostos de menor peso molecular: as proteínas são degradadas a aminoácidos, os carboidratos a açúcares solúveis (mono e dissacarídeos) e os lipídeos à glicerina e ácidos graxos de cadeias longas (C_{15} a C_{17}).

Em seguida, segundo VAN HAANDEL e LETTINGA (1994), os compostos são absorvidos pelas células fermentativas, metabolizados e excretados na forma de ácidos graxos voláteis (AGV), álcoois, ácido láctico e compostos minerais, tais como CO_2 , H_2 , NH_3 , H_2S , etc.

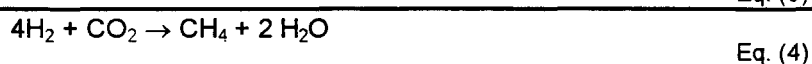
Durante a acetogênese, os produtos obtidos da acidogênese são degradados e convertidos a ácido acético, CO_2 e hidrogênio. Tais reações de transformação são apresentadas de forma genérica na Tabela 2.

Tabela 2 – Reações de formação do ácido acético.

Fonte: adaptado de VAN HAANDEL e LETTINGA (1994).

Nesta etapa, FORESTI (1997) cita que uma fração de aproximadamente 70% da DQO original é transformada em ácido acético, enquanto que 30% restante é concentrado na formação de hidrogênio.

Na etapa final, o metano é produzido pela ação das bactérias acetofílicas (a partir da redução do ácido acético) e hidrogenotróficas (a partir da redução do dióxido de carbono), conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 – Reações de formação do metano.

Fonte: adaptado de VAN HAANDEL e LETTINGA (1994).

Como as bactérias hidrogenotróficas crescem mais rapidamente que as acetotróficas, geralmente a velocidade de degradação da matéria orgânica complexa é limitada pela ação das bactérias metanogênicas acetotróficas.

2.2.1.2.2 Degradação do Metanol

De acordo com FLORENCIO *et al.* (1994), sob condições anaeróbias, o metanol constitui-se numa fonte de carbono para uma variedade de grupos tróficos. A Figura 4 mostra as rotas de degradação anaeróbia do metanol.

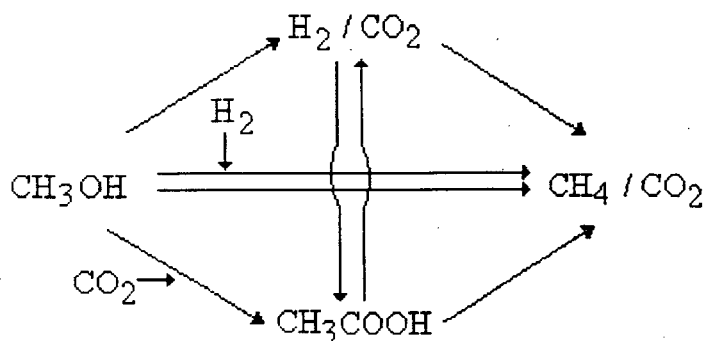


Figura 4 – Possíveis rotas de formação do metano a partir do metanol.

Fonte: FLORENCIO *et al.* (1996).

Segundo JARREL e KALMOKOFF (1988), citados por FLORENCIO *et al.* (1994), na ausência de oxigênio molecular, o metanol pode ser convertido diretamente a metano pela ação das bactérias metanogênicas metilotróficas. Entretanto LJUNGDAHL (1986), citado por FLORENCIO *et al.* (1994), relata que a degradação do metanol a acetato também é possível, sendo porém limitada à disponibilidade de carbono inorgânico.

Os principais fatores ambientais que favorecem a predominância das bactérias acetogênicas sobre as metanogênicas, em sistemas de tratamento anaeróbio de efluentes contendo metanol, foram estudados por FLORENCIO (1994). Foram investigados a influência de elementos traço, a concentração do metanol, o pH, o nível de bicarbonato e a concentração dos ácidos graxos não-dissociados no reator.

Dentre os elementos traço avaliados, o cobalto foi o único capaz de influenciar significativamente a metanogênese do metanol. Sob baixos níveis de cobalto, somente as metanogênicas permaneceram ativas, enquanto que a produção de acetato diminuiu grandemente.

Para concentrações de metanol inferiores a aproximadamente 80 mM, as velocidades de crescimento das bactérias metanogênicas são superiores a das acetogênicas. Nestas condições, as metanogênicas apresentam afinidade maior (cerca de 60 vezes) pelo metanol que as acetogênicas e, conseqüentemente, irão predominar.

Segundo a pesquisa realizada, o bicarbonato desempenha um papel importante na degradação do metanol pelo fato de agir como um co-substrato

na acetogênese. De acordo com a estequiometria mostrada na Tabela 4, em função da geração do bicarbonato endógeno na metanogênese, até um terço do metanol pode ser consumido pelas acetogênicas. Assim, para obter-se uma conversão completa de metanol em acetato, bicarbonato exógeno tem que ser adicionado ao sistema. Deste modo, observa-se que, sem a adição do bicarbonato exógeno, as metanogênicas serão os principais grupos tróficos.

Tabela 4 – Formação de metano, acetato e butirato a partir do metanol.

REAÇÃO					
4 CH ₃ OH	→	3 CH ₄ + HCO ₃ ⁻	+ H ⁺ + H ₂ O	Eq. (5)	
4 CH ₃ OH + 3 HCO ₃ ⁻	→	3 CH ₃ COO ⁻	+ H ⁺ + 4 H ₂ O	Eq. (6)	
10 CH ₃ OH + 2 HCO ₃ ⁻	→	3 C ₃ H ₇ COO ⁻	+ H ⁺ + 10 H ₂ O	Eq. (7)	

Fonte: FLORENCIO (1994).

A capacidade de tamponamento de um sistema é outro fator fundamental a ser avaliado. A produção de CO₂ e ácidos graxos voláteis (AGV) em reatores com insuficiente capacidade de tamponamento provocará o abaixamento de pH. Para baixos valores de pH, a fração de AGV não dissociados aumenta, provocando um efeito tóxico sobre as metanogênicas. Assim, a medida que esta condição se mantém, as metanogênicas são pouco a pouco eliminadas do sistema.

De modo geral, os resultados mostram que o metanol será convertido diretamente a metano se o pH do reator for mantido entre 4,2 – 7,2, ou ainda se a concentração do metanol, carbono inorgânico ou cobalto forem baixas. A predominância da acetogênese somente ocorrerá se houver alta concentração do metanol no reator, se for adicionado carbono exógeno em excesso, se cobalto estiver disponível e as metanogênicas inibidas por altos níveis AGV não-dissociados. Nesta situação, todas as quatro condições devem ser satisfeitas.

Baseado nos dados experimentais obtidos, FLORENCIO (1994) propôs o modelo ilustrado na Figura 5.

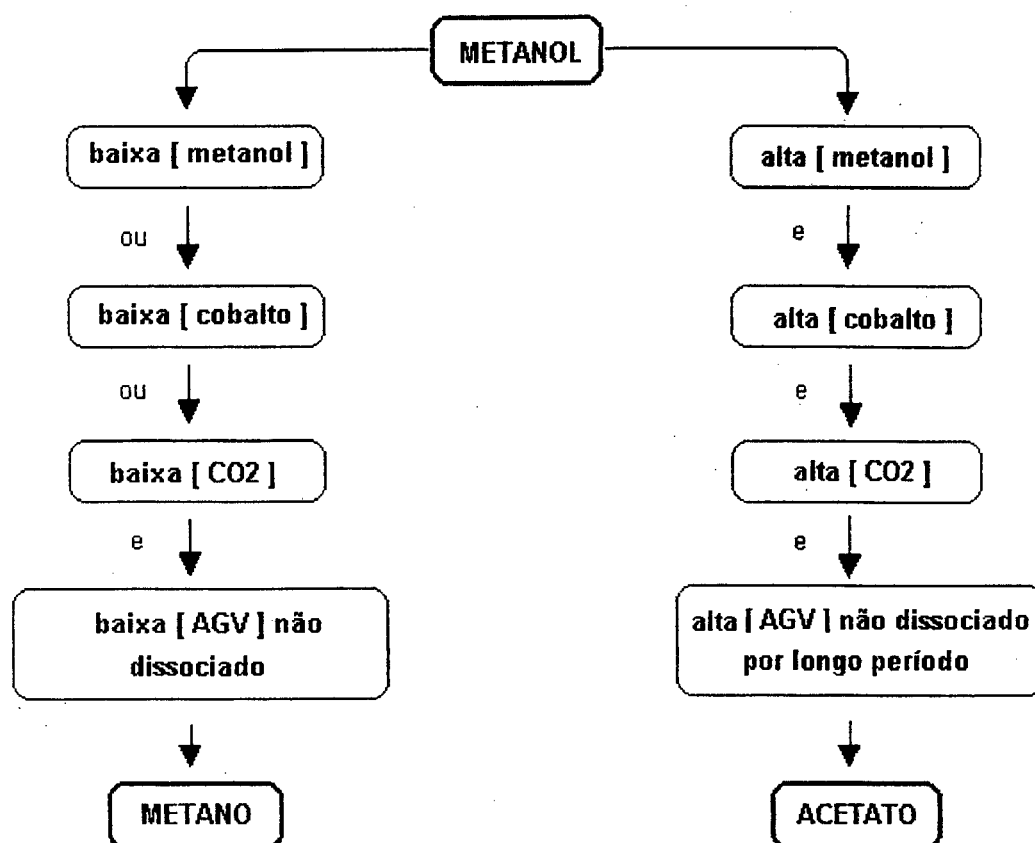


Figura 5 – Destino final do metanol em biorreatores anaeróbios.
 Fonte: FLORENCIO (1994).

2.2.1.2.3 Degradação do Pentaclorofenol (PCP)

Apesar do longo tempo de partida dos reatores anaeróbios e da incompleta compreensão da microbiologia envolvida, a biodegradação de compostos clorados por meio da digestão anaeróbia é de grande interesse, conforme comentam VARGAS e AHLERT (1987). Isso se deve ao fato de que existem mais evidências da biodegradação dos compostos clorados em sistemas anaeróbios do que em sistemas aeróbios.

A biodegradação do PCP ocorre por meio de reações de desalogenação redutiva, onde o cloro da molécula é permutado por átomo de hidrogênio. HENDRIKSEN *et al.* (1992) relatam que a desalogenação é um processo de importância ambiental uma vez que produz, de um modo geral, compostos menos tóxicos e menos recalcitrantes. Entretanto, um ponto a ser considerado

é que, segundo NICHOLSON *et al.* (1992), fenóis menos clorados possuem maior mobilidade nos solos, uma vez que são mais solúveis em água.

De acordo com LARSEN *et al.* (1991), vários são os fatores que afetam a biodegradação dos clorofenóis (temperatura, salinidade, pH, microorganismos, potencial redox, exposição prévia e presença de fontes suplementares de carbono), porém pouco se sabe a respeito do efeito de fatores ambientais e das fontes suplementares sobre a desalogenação de compostos cloroaromáticos.

Segundo MONTENEGRO (1999), a desalogenação redutiva não provê uma fonte de carbono para os microorganismos, mas pode vir a suprir as células em energia. Desta forma, WU *et al.* (1993) comentam a necessidade de se adicionar substratos suplementares (co-substrato).

O efeito positivo da adição da glicose sobre o processo de descloração do PCP em reatores UASB foi avaliado por HENDRIKSEN *et al.* (1992). Verificou-se que o reator alimentado com PCP (3 mg/l) como único substrato atingiu uma eficiência máxima de conversão de 32 – 37%, ao passo que o reator que recebeu, além do PCP (4,5 g/l), a glicose como fonte adicional de carbono, chegou a 99% de remoção do PCP.

NIES e VOGEL (1990) estudaram os efeitos da adição de acetona, acetato, metanol e glicose como substratos orgânicos no processo de desalogenação redutiva de bifenilas policloradas (PCBs). Dentre os substratos orgânicos testados, os ensaios contendo glicose foram os que removeram mais rapidamente e extensivamente o inibidor, seguidos daqueles que utilizaram a acetona. Os ensaios alimentados com acetato foram os que tiveram o menor grau de descloração. As velocidades e a extensão iniciais da descloração nos ensaios contendo metanol foram semelhantes aos encontrados nos ensaios efetuados com acetato porém, com o passar do tempo, superaram os obtidos com acetato.

Segundo GIBSON e SUFLITA (1990), a adição dos ácidos butírico e propiônico, assim como o etanol, promove um estímulo à biodegradação de um herbicida halogenado (2,4,5-T).

WU *et al.* (1993) estudaram a biodegradação de PCP utilizando culturas aclimatadas e não aclimatadas ao tóxico e uma mistura de ácidos voláteis de cadeia curta e metanol como substrato.

Além da presença de fontes adicionais de carbono, um outro fator que afeta a biodegradação dos clorofenóis relatado por MIKESELL e BOYD (1986) é o número de átomos de cloro presentes na molécula. Estudos desenvolvidos por MIKESELL e BOYD (1986) mostraram que fenóis menos clorados (tais como os tetraclorofenóis e triclorofenóis) são menos sujeitos a reações de desalogenação redutiva que o PCP e portanto, tendem a se acumular nos sistemas.

De acordo com MOHN e TIEDJE (1992), a descloração do PCP depende também de fatores biológicos. Tal fato foi verificado em estudos efetuados por MIKESELL e BOYD (1986) com células esterilizadas, onde não foi verificada a biodegradação do PCP.

De acordo com WOODS *et al.* (1989), a rota de biodegradação dos organoclorados sofre influência das características do consórcio microbiano empregado. WOODS *et al.* (1989) relatam que culturas não aclimatadas preferivelmente removem os átomos de cloro da posição adjacente ao grupo hidroxila. Já organismos aclimatados ao PCP, de acordo NICHOLSON *et al.* (1992), são capazes de remover os átomos de cloro presentes nas posições meta, orto e para.

Segundo NICHOLSON *et al.* (1992), os fatores ambientais (pH, temperatura, nutrientes, etc.) também desempenham um papel importante na descloração do PCP.

Recentemente, a influência dos doadores e aceptores de elétrons, durante a desalogenação redutiva, foi revisada por MONTENEGRO (1999).

A Figura 6 apresenta a rota de degradação do PCP proposta por HENDRIKSEN *et al.* (1992).

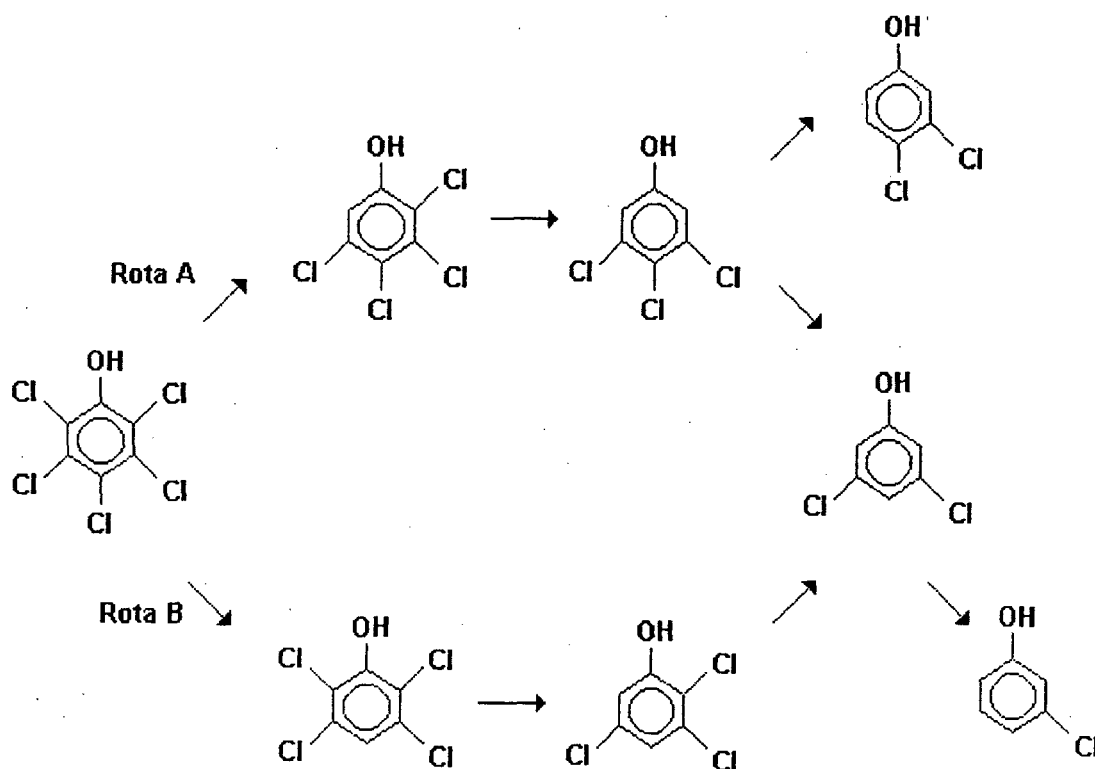


Figura 6 – Rota de degradação do PCP segundo HENDRIKSEN *et al.* (1992).
Fonte: HENDRIKSEN *et al.* (1992).

2.2.1.3 Termodinâmica

Segundo FORESTI (1994), o estudo das trocas de energia que ocorrem em sistemas anaeróbios é uma tarefa difícil, não apenas devido à complexidade do processo, mas também pela dificuldade encontrada na quantificação das baixas concentrações dos produtos finais e intermediários.

De acordo com LEMA *et al.* (1992), pelo fato de que uma grande fração do conteúdo energético dos reagentes permanecer nos produtos, especialmente na fase gasosa, a energia disponível para crescimento celular é baixa.

Na Tabela 5 estão listadas algumas reações de oxidação e de redução importantes dos sistemas anaeróbios.

Tabela 5- Algumas reações de oxidação e redução importantes do processo anaeróbio.

Oxidações (Reações que doam elétrons)		ΔG°, kJ	
Propionato → Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COO}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- + \text{H}_2$	+76,1	(8)
Butirato → Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+48,1	(9)
Etanol → Acetato	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+9,6	(10)
Lactato → Acetato	$\text{CH}_3\text{CHOHCOO}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	-4,2	(11)
Acetato → Metano	$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{CH}_4$	-31,0	(12)
Reduções (Reações que recebem elétrons)			
$\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{Acetato}$	$\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-104,6	(13)
$\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{Metano}$	$\text{HCO}_3^- + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-135,6	(14)
Sulfato → Sulfeto	$\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-151,9	(15)
	$\text{SO}_4^{2-} + \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{S}$	-59,9	(16)
Nitrato → Amônia	$\text{NO}_3^- + 4\text{H}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{NH}_4^+ + 3\text{H}_2\text{O}$	-599,6	(17)
	$\text{CH}_3\text{COO}^- + \text{NO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{HCO}_3^-$	-511,4	(18)
Nitrato → Nitrogênio	$2\text{NO}_3^- + 5\text{H}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{N}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	-1.120,5	(19)

Fonte: HARPER e POHLAND (1986) citado por NASCIMENTO (1996).

Pela Tabela 5 observa-se que as reações de degradação do propionato, butirato e etanol apresentam $\Delta G^\circ > 0$ e, portanto, são termodinamicamente desfavoráveis nas condições padrão. Assim, para que estas reações ocorram, é necessário que o equilíbrio das reações seja deslocado para a direita. Tal fato é conseguido, conforme relatam LEMA *et al.* (1997), fazendo-se a retirada dos produtos hidrogênio e acetato do sistema. A remoção contínua de H_2 do meio é efetuada pelas bactérias metanogênicas hidrogenotróficas, conforme mostrado na Equação 4. Por sua vez, o acetato produzido deve ser degradado por meio das bactérias metanogênicas acetoclásticas, como mostrado anteriormente na Equação 3. Desta forma, a disponibilidade de hidrogênio no sistema é essencial para a obtenção completa da conversão da matéria orgânica.

A Figura 7 mostra a termodinâmica do propionato, do etanol e do metabolismo do H_2 como uma função da concentração de hidrogênio.

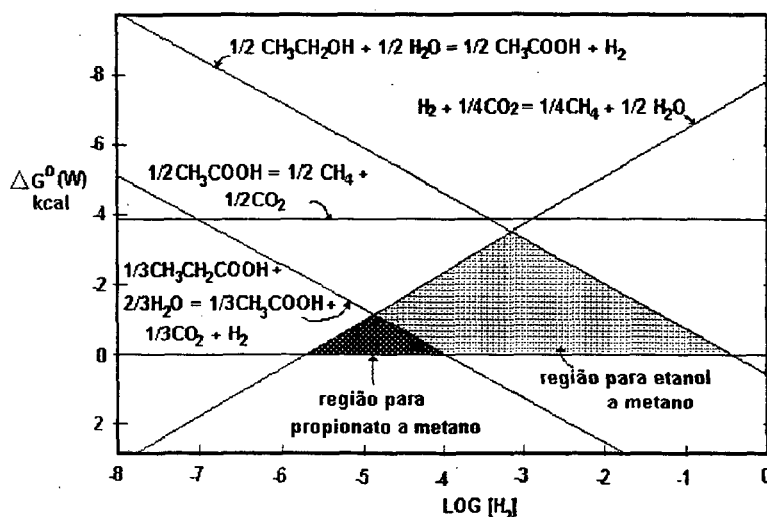


Figura 7 - Relações entre a concentração de H_2 e a variação da energia livre de Gibbs.

Fonte: MCCARTY (1981) citado por SPEECE (1996).

Através da Figura 7 pode-se notar que o valor de ΔG aumenta com o acréscimo da concentração do hidrogênio nas retas com inclinação negativa, ao passo que nas retas com inclinação positiva, um efeito oposto é verificado. Ainda, pela Figura 7 pode-se constatar a faixa de valores de pressão parcial de hidrogênio para os quais algumas reações são termodinamicamente possíveis. Por exemplo, conforme menciona SPEECE (1983), pode-se observar que a conversão do propionato a acetato não é possível a menos que a pressão parcial do H_2 seja menor que 10^{-4} atm.

Assim, é fator fundamental para o bom andamento do processo anaeróbico a existência de um equilíbrio dinâmico entre os diferentes grupos de bactérias que produzem e consomem o hidrogênio.

2.2.1.4 Fatores Ambientais

A seguir são comentados os principais fatores ambientais que influenciam na cinética microbiana.

2.2.1.4.1 Temperatura

De acordo com FORESTI (1994), a temperatura é um dos fatores mais importantes e mais extensivamente estudados da digestão anaeróbia.

Segundo NASCIMENTO (1996), a temperatura desempenha um papel fundamental no crescimento das bactérias, na atividade das enzimas e na velocidade das reações.

CARMO (1998) relata a existência de dois níveis ótimos de temperatura associados à digestão anaeróbia: um situado na faixa mesofílica (30 a 35°C) e o outro na faixa termófila (50 a 55°C), conforme mostra a Figura 8.

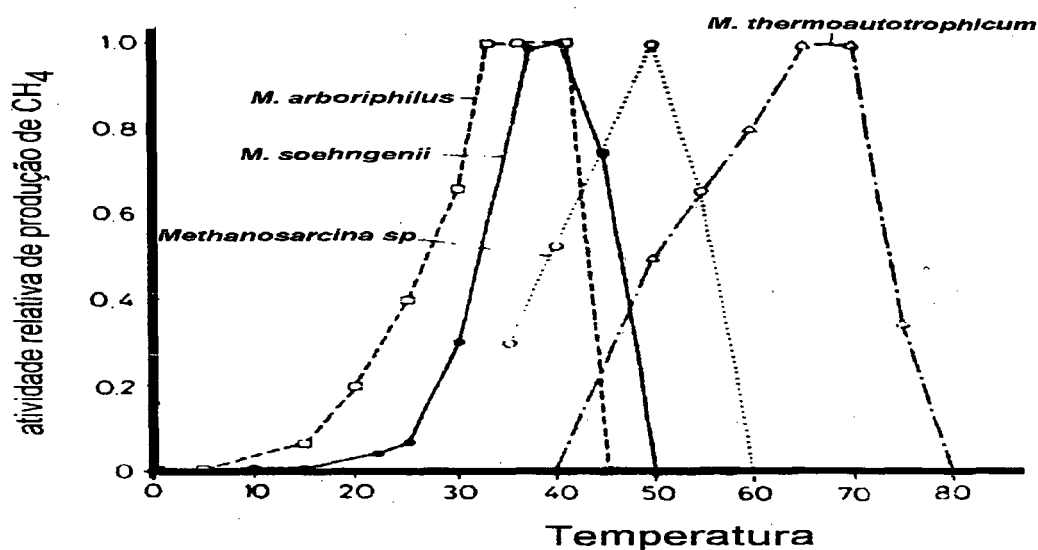


Figura 8 - Influência da temperatura na atividade relativa de produção de metano.

Fonte: Adaptado de ZEHNDER *et al.* (1982) citado por NASCIMENTO (1996).

FORESTI (1994) explica que a ocorrência destas duas faixas ótimas de temperatura é compreensível quando se leva em conta que a resposta às variações de temperatura é dada pelo somatório das respostas individuais de cada espécie presente nestes sistemas.

O emprego de temperaturas inferiores a 30°C, conforme relatam VAN HAANDEL e LETTINGA (1994), causa uma redução na velocidade de degradação da matéria orgânica e, como consequência, um decréscimo na eficiência do processo.

2.2.1.4.2 Nutrientes

De acordo com MALINA (1992) citado por CARMO (1998), todos os microorganismos para se desenvolverem requerem um conteúdo mínimo de energia, carbono, macronutrientes inorgânicos (nitrogênio e fósforo), micronutrientes inorgânicos (principais: enxofre, potássio, cálcio, magnésio, ferro, sódio e cloro; secundários: zinco, manganês, molibdênio, selênio, cobalto, cobre, níquel, vanádio e tungstênio), além de fatores orgânicos de crescimento (vitaminas, aminoácidos e outros).

Segundo PELCZAR *et al.* (1980), a quantidade exigida de cada nutriente irá variar de espécie para espécie. Entretanto, de modo geral, a faixa de valores recomendados por LETTINGA (1980) para tratamento de efluentes contendo principalmente ácidos graxos voláteis indica uma relação DQO : N : P de 100 : 5 : 1, e uma relação de 350 : 5 : 1 para efluentes mais complexos.

Com relação à adição de micronutrientes, CARMO (1998) descreve que estes são responsáveis por cerca de 4 % do peso seco das células e sua exigência exata é difícil de ser determinada uma vez que, na presença de sulfetos, ocorre a precipitação destes elementos, fazendo com que a biodisponibilidade seja baixa.

2.2.1.4.3 pH e alcalinidade

Além do requerimento nutricional e do controle de temperatura, um outro fator de importância extrema no crescimento das células é o *pH*.

De acordo com METCALF e EDDY (1991), a faixa de *pH* ótima para a maioria das bactérias está situada entre 6,5 e 7,5. Embora muito poucos microorganismos possam se desenvolver nos limites extremos de *pH*, as variações mínimas e máximas, para a maior parte das espécies, estão entre *pH* 4 e *pH* 9 (PELCZAR *et al.*, 1980). Os níveis ótimos de atividade citados por LEMA *et al.* (1992) se encontram entre 7,2 – 7,4, para as bactérias hidrolíticas, em torno de 6,0 para as acidogênicas, entre 6,0 – 6,2 para as

homoacetogênicas e entre 6,5 – 7,5 para as metanogênicas hidrogenotróficas ou acetoclásticas.

A estabilidade do *pH* em sistemas anaeróbios é vital para o bom funcionamento do processo e está relacionado com o equilíbrio iônico dos diferentes sistemas ácido/base presentes. NASCIMENTO (1996) revela que os ácidos mais importantes para a estabilização do *pH* são os ácidos fracos, como o sistema carbônico ($\text{CO}_2 - \text{HCO}_3^- - \text{CO}_3^{=}$), presentes em grande concentrações nos reatores anaeróbios.

Uma vez que durante a degradação da matéria orgânica complexa são formados ácidos orgânicos (produtos intermediários), FORESTI (1994) relata que a alcalinidade do sistema deve ser suficiente para manter o *pH* dentro da faixa ótima. Caso o sistema não dispuser de alcalinidade suficiente, SPEECE (1996) menciona que esta poderá ser elevada através da adição de agentes químicos, tais como o carbonato de sódio, o bicarbonato de sódio, a soda cáustica e a amônia.

CARMO (1998) define a alcalinidade de um digestor anaeróbio como a medida da capacidade de tamponamento das bactérias ácidas presentes no meio. Um sistema operado com uma alcalinidade mais elevada é a princípio mais robusto, já que resiste melhor às variações repentinas no *pH*. De acordo com LEMA *et al.* (1992), é aconselhável manter-se um valor de alcalinidade superior a 1,5 g/l, expressa em bicarbonato.

Dentre as bactérias que participam da digestão anaeróbia, as metanogênicas são consideradas as bactérias mais sensíveis às variações de *pH*, em função de seu lento metabolismo. Uma vez que as metanogênicas geralmente participam da etapa limitante do processo, a maior parte dos processos anaeróbios são operados a *pH* próximos à neutralidade.

2.2.1.4.4 Toxicidade e inibição

A toxicidade é definida por SPEECE (1996) como sendo um efeito adverso, não necessariamente letal, sobre o metabolismo bacteriano.

Praticamente qualquer substância pode ser estimuladora, inibidora ou tóxica ao processo biológico. O efeito observado dependerá da concentração

da substância no reator e eventualmente da relação entre sua concentração e a fonte de carbono (CRAVEIRO, 1994).

De acordo com JOHNSON e YOUNG (1983), um composto orgânico pode ser tóxico a um determinado grupo de microorganismos, por exemplo, as bactérias metanogênicas, e não o ser para os demais grupos presentes no sistema. Neste caso, o composto é degradado e seu efeito inibitório pode ser eliminado.

Segundo OLIVEIRA *et al.* (1993), algumas das substâncias capazes de provocar um efeito tóxico nos sistemas anaeróbios são: amônia, sulfatos/sulfetos, metais pesados, alcalinos e alcalinos terrosos, organoclorados, além do oxigênio.

MIKESELL e BOYD (1986) comentam que o PCP é um potente inibidor da fosforilação oxidativa, sendo tóxico a uma grande variedade de organismos. WU *et al.* (1993) verificaram que concentrações de PCP de 1 a 2,5 mg/l foram inibitórias as metanogênicas e acetogênicas degradadoras de ácidos graxos.

Um aspecto importante com relação à toxicidade comentado por SPEECE (1996) é a habilidade que os microorganismos possuem em adaptarem-se à presença de substâncias tóxicas.

CHERNICHARO (1997) comenta que a estimulação microbiana é conseguida através da utilização de baixas concentrações de alguns compostos orgânicos e inorgânicos tóxicos ou inibidores. Entretanto, a medida que aumenta-se a concentração destas substâncias no sistema, a taxa de atividade microbiana é reduzida. Um aumento elevado destes compostos poderá resultar na inatividade dos microorganismos, porém se conduzido de forma lenta e gradual, o processo poderá adaptar-se à presença destas substâncias em concentrações surpreendentemente elevadas.

Desta forma JOHNSON e YOUNG (1983) definem o termo aclimação como a habilidade que a maioria dos microorganismos possuem em adaptarem-se, em alguma extensão, a concentrações inibitórias de compostos tóxicos.

Segundo SPEECE (1996), a chave para um tratamento estável e eficiente de efluentes contendo elevadas cargas de compostos tóxicos provém do desenvolvimento de um protocolo adequado para aclimação e manutenção das células.

Vários pesquisadores demonstraram a ocorrência de uma inibição reversível durante os testes de toxicidade com compostos químicos orgânicos. PARKINS e SPEECE (1982) mostraram que as culturas anaeróbias são as únicas capazes de se recuperarem frente a cargas-choque de exposição à tóxicos, ainda que o metabolismo tenha sido completamente inibido por vários meses.

Em algumas vezes, como no caso de organoclorados, a adição de co-substratos permite uma redução na toxicidade.

2.2.1.5 MODELOS CINÉTICOS

Usualmente, três relações cinéticas são fundamentais para a descrição dos sistemas biológicos: a velocidade de consumo do substrato, a velocidade de crescimento celular e a velocidade de formação de produtos.

Uma vez que a digestão anaeróbia é um processo complexo, é necessário distinguir entre as características que definem o processo como um todo e as características de cada etapa em particular (LEMA *et al.*, 1991).

Segundo LEMA *et al.* (1991), as reações das etapas são em geral representadas por cinéticas de primeira ordem com relação ao substrato, entretanto ordens menores também são encontradas. A representação do processo como um todo é baseado na cinética da etapa limitante, determinante da velocidade global do processo.

ALEXANDER (1994) comenta que muitos modelos tem sido propostos para representar a cinética de biodegradação. Normalmente os modelos empregados para ajustar os dados são, em essência, empíricos.

De acordo com KLECKA *et al.* (1988), a cinética de crescimento bacteriano referente a uma mistura de compostos orgânicos pode diferir da cinética onde somente um substrato é utilizado como fonte de carbono. Quando dois ou mais substratos são utilizados para o crescimento de uma população microbiana, os microorganismos podem utilizar estes compostos simultaneamente ou, ainda, preferencialmente um e, em seguida, os demais (crescimento diauxico).

KLECKA *et al.* (1988) comentam que a cinética da utilização de vários substratos tem sido modelada incorporando funções que descrevem o crescimento e a utilização dos componentes individuais da mistura na equação da velocidade de crescimento celular.

A complexidade das reações de biotransformação aumentam significativamente quando substratos orgânicos de diversas etapas da digestão anaeróbia são adicionados ao sistema. Modelar estas reações complexas é extremamente complicado, particularmente sob condições tóxicas (KIM *et al.*, 1994).

Uma vez que não é possível medir a biomassa ativa responsável em cada reação envolvida nos sistemas de tratamento anaeróbio de efluentes, KIM *et al.* (1994) relatam a necessidade da quebra da seqüência de biotransformação em reações específicas que podem ser isoladas, controladas e estudadas separadamente.

KIM *et al.* (1994) citam que as interações se tornam ainda mais complexas quando vários substratos são adicionados sob condições de estresse (provocado por exemplo pela adição de um composto tóxico), quando essencialmente todas as reações são reversíveis.

Segundo SPEECE (1996), os fatores que afetam as velocidades de degradação microbiana dos compostos estão relacionados ao substrato (propriedades físico-químicas e concentração), ao microorganismo (composição da população, densidade populacional, história prévia, interações inter-espécies, atividade, etc.) e a fatores ambientais (temperatura, pH, moisture, salinidade, presença de outras substâncias e disponibilidade de oxigênio).

Desta forma, diferentes sistemas irão requerer diferentes modelos.

De modo geral, os parâmetros cinéticos descritos por LEMA *et al.* (1992) são: (i) velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}), que informa a velocidade de crescimento na ausência de limitações de substrato; (ii) o fator de conversão de substrato a microorganismos ($Y_{X/S}$), que indica a fração de substrato destinada a crescimento celular; (iii) a constante de afinidade (K_s), que indica a avidez de um determinado grupo trófico por um substrato; e, (iv) a velocidade específica máxima (r_s), que indica a quantidade máxima de substrato utilizada, por unidade de biomassa, na unidade de tempo.

A seguir são apresentados os modelos disponíveis na literatura, na presença e ausência de compostos tóxicos.

2.2.1.5.1 Modelos que não levam em conta a inibição

Na Tabela 6 são mostrados os modelos cinéticos tradicionais empregados na quantificação do efeito da concentração de um substrato limitante sobre a velocidade de crescimento celular na ausência de inibidores.

Tabela 6 – Modelos cinéticos empregados na digestão anaeróbia.

Primeira Ordem

$$-r_S = k_1 C_S \quad \text{Eq. (20)}$$

Grau et al.

$$-r_S = \frac{\mu_m C_X}{Y_{X/S}} \frac{C_S}{C_{S0}} \quad \text{Eq. (21)}$$

Monod

$$-r_S = \frac{\mu_m C_X}{Y_{X/S}} \frac{C_S}{K_S + C_S} \quad \text{Eq. (22)}$$

Contois

$$-r_S = \frac{\mu_m C_X C_S}{Y_{X/S} (B C_X + C_S)} \quad \text{Eq. (23)}$$

Chen e Hashimoto

$$-r_S = \frac{\mu_m C_X C_S}{K C_X + Y_{X/S} C_S} \quad \text{Eq. (24)}$$

Fonte: Adaptado de PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ (1991).

Onde: μ : velocidade específica de crescimento (T^{-1}); μ_m : velocidade específica máxima de crescimento (T^{-1}); C_S : concentração do substrato limitante ($M.L^{-3}$); C_X : concentração celular ($M.L^{-3}$); C_{S0} : concentração inicial do substrato limitante ($M.L^{-3}$); K_S : constante de saturação ($M.L^{-3}$); k_1 : constante da cinética de primeira ordem (T^{-1}); r_S : velocidade de utilização do substrato ($M.L^{-3}.T^{-1}$).

Dentre os modelos matemáticos empregados para descrever o crescimento dos microorganismos como função da concentração do substrato, PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ (1991) relatam que o modelo proposto por Monod é o mais amplamente empregado. O modelo de Monod, mostrado

na Equação (22), relaciona a velocidade de consumo do substrato limitante com a concentração de células no meio. Neste modelo, assume-se que todos os nutrientes e demais substratos estão presentes em excesso e os produtos gerados não são acumulados ao ponto de causarem inibição ao sistema. A expressão de Monod é graficamente representada por uma curva hiperbólica mostrada na Figura 9.

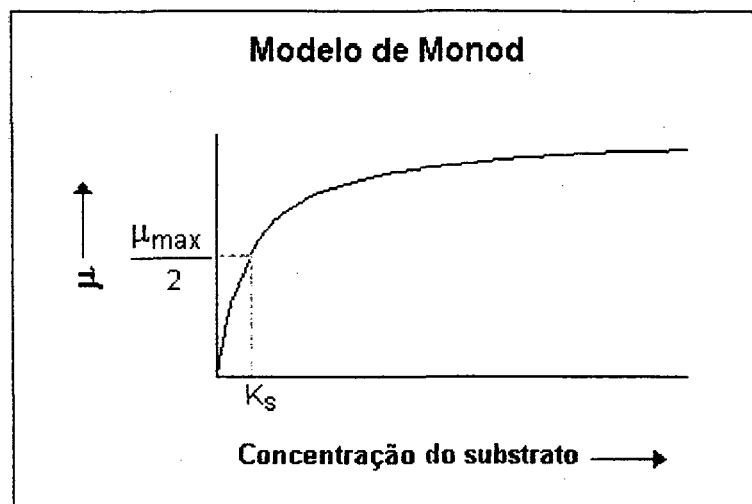


Figura 9 – Representação gráfica da expressão de Monod.
Fonte: Adaptado de ALEXANDER (1994).

Segundo ALEXANDER (1994), nos casos em que os substratos sofrem sorção, são insolúveis, ou tóxicos, e mesmo para culturas puras, o emprego do modelo de Monod pode ser inadequado.

Os modelos de CONTOIS (1959), CHEN e HASIMOTO (1978) e GRAU *et al.* (1975) foram desenvolvidos posteriormente ao modelo de Monod e propostos para prever a concentração do substrato no efluente em função da concentração do substrato no afluente (sistema contínuo).

A respiração endógena (comumente definida como autodestruição de biomassa), a manutenção das células, predação, morte celular e lisis são processos que levam ao decréscimo de biomassa. Estes processos são importantes em sistemas de tratamento de efluentes, principalmente sistemas anaeróbios, uma vez que usualmente operam a baixas velocidades específicas de crescimento (PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ, 1991).

De acordo com HENZE e HARREMOËS (1983), com exceção da hidrólise, os demais subprocessos da digestão anaeróbia têm sido modelados com sucesso pela expressão de Monod.

Segundo EASTMAN e FERGUSON (1981), a hidrólise pode ser adequadamente representada por uma cinética de primeira ordem com relação à concentração de material particulado degradável (C_{MPD}), conforme mostrado na Equação 25.

$$r_h = k_h C_{MPD} \quad \text{Eq. (25)}$$

Onde:

k_h : constante de velocidade de hidrólise (T^{-1});

C_{MPD} : concentração de material particulado degradável ($M.L^{-3}$);

r_h : velocidade de hidrólise ($M.L^{-3}T^{-1}$).

Conforme relatam ROBISON e TIEDJE (1983), a equação de Monod (forma integrada) pode ser utilizada de forma vantajosa para estimar os parâmetros cinéticos μ_m , K_s e $Y_{X/S}$, uma vez que estes podem ser determinados a partir de um único conjunto de dados. Entretanto, existem algumas limitações no método: (i) o crescimento celular é descrito no estado estacionário, e portanto, quando aplicado ao regime transiente pode apresentar falhas; (ii) pelo fato do termo de manutenção ser ignorado, podem haver erros na estimação dos parâmetros, particularmente em K_s .

Para bactérias que crescem apreciavelmente, ALEXANDER (1994) menciona que a quantidade de substrato deve ser suficientemente alta com relação ao número de células ativas de modo a permitir que estas se dupliquem várias vezes. Se a densidade da célula é alta em relação à concentração de substrato, pouco ou nenhum aumento é possível no número de células; sob estas condições, três casos podem ser considerados: $S_0 \gg K_s$, $S_0 \approx K_s$ e $S_0 \ll K_s$. Tais cinéticas assemelham-se às das reações enzimáticas nas quais não há crescimento celular envolvido, cuja relação entre a velocidade da reação enzimática e a concentração do substrato para uma enzima é freqüentemente melhor expressa pela Equação de Michaelis – Menten (Eq. 26):

$$r = \frac{v_{\max} S}{K_m + S} \quad \text{Eq. (26)}$$

onde r é a velocidade de utilização do substrato ($\text{M.L}^{-3}\text{T}^{-1}$), V_{\max} é parâmetro da cinética de Michaelis-Menten ($\text{M.L}^{-3}\text{T}^{-1}$) e K_m é a constante de Michaelis (M.L^{-3}).

Substituindo-se r , V_{\max} e K_m na Equação (26) por μ , μ_m e K_s , respectivamente, chega-se ao modelo de Monod (Eq. 22). A diferença essencial na cinética de Michaelis – Menten para a de Monod está relacionada com a quantidade de material reativo (enzima): na cinética de Michaelis – Menten é considerado constante enquanto que na cinética de Monod é variável.

Um método simples aplicável para a determinação dos parâmetros cinéticos médios (K_m e V_{\max}) da cinética de Michaelis – Menten de uma comunidade microbiana mista, sob condições de concentração de substrato variável, foi proposto por COUNOTTE e PRINS (1979). As limitações do método são: (i) requer que a medida da concentração inicial do substrato seja precisa, e (ii) o período de teste deve ser o menor possível, de modo a eliminar os erros provenientes ao crescimento da biomassa.

ANDREWS (1984), a partir de um conjunto de dados experimentais obtidos em sistema batelada, propôs um modelo para estimar os parâmetros cinéticos, incluindo o termo de respiração endógena. O autor verificou que o termo de decaimento deve ser incluindo na modelagem de bioprocessos quando a concentração inicial de substrato for baixa e o crescimento celular for lento. Segundo os estudos desenvolvidos por DAVIES-VENN *et al.* (1992), o decaimento da biomassa deve ser considerado na modelagem quando longos períodos de tempo são necessários para a conversão do substrato.

Um resumo da faixa de valores encontrados para os parâmetros cinéticos pertinentes a cada etapa do processo anaeróbio é mostrado na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores encontrados para os parâmetros cinéticos em cada etapa do processo anaeróbio a temperaturas mesofílicas.

Substrato	Processo	K (gDQO / gSSV-d)	K _s (mg DQO/L)	μ _m (d ⁻¹)	Y _{X/S} (gSSV/ gDQO)	K _d (d ⁻¹)
carboidratos	acidogênese	1,33 – 70,6	22,5 – 630	7,2 - 30	0,14 - 0,17	6,1
ácidos graxos de cadeia longa	oxidação anaeróbia	0,77 - 6,67	105 – 3180	0,085 - 0,55	0,04 - 0,11	0,01 - 0,015
ácidos graxos de cadeia curta (*)	oxidação anaeróbia	6,2 - 17,1	12 – 500	0,13 - 1,20	0,025 - 0,047	0,01 - 0,027
acetato	metanogênese acetoclástica	2,6 - 11,6	11 – 421	0,08 - 0,7	0,01 - 0,054	0,004 - 0,037
hidrogênio/ dióxido de carbono	metanogênese	1,92 – 90	4,8*10 ⁻⁵ - 0,6	0,05 - 4,07	0,017 - 0,045	0,088

(*) exceto o acetato

Fonte: Adaptado de PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ (1991).

2.2.1.5.2 Modelos que levam em conta a inibição

Alguns modelos matemáticos utilizados para avaliar a cinética das reações envolvidas no processo anaeróbio sob condições de inibição provocada pela presença de compostos tóxicos/concentrações desfavoráveis de substrato são mostrados na Tabela 8.

Tabela 8 – Alguns modelos cinéticos empregados na digestão anaeróbia sob condições de inibição.

Inibição competitiva

$$-r_S = \frac{\mu_m X}{Y_{X/S}} \left(\frac{C_S}{K_S \left(1 + \frac{C_i}{k_i} \right) + C_S} \right) \quad \text{Eq. (27)}$$

Inibição incompetitiva

$$-r_S = \frac{\mu_m X}{Y_{X/S}} \left(\frac{C_S}{K_S + C_S \left(1 + \frac{C_i}{k_i} \right)} \right) \quad \text{Eq. (28)}$$

Inibição não competitiva

$$-r_S = \frac{\mu_m X}{Y_{X/S}} \left(\frac{C_S}{(K_S + C_S) \left(1 + \frac{C_i}{k_i} \right)} \right) \quad \text{Eq. (29)}$$

Andrews

$$-r_S = \frac{\mu_m X}{Y_{X/S}} \left(\frac{C_S}{K_S + C_S + \frac{C_S^2}{k_I}} \right) \quad \text{Eq. (30)}$$

Andrews Modificado

$$-r_S = \frac{\mu_m X}{Y_{X/S}} \left(\frac{C_S}{K_S + C_S + \left(\frac{C_S}{k_I} \right)^n} \right) \quad \text{Eq. (31)}$$

Hans e Lenvenspiel

$$-r_S = \frac{\mu_m X}{Y_{X/S}} \left(\frac{\left(1 - \frac{C_i}{C_i^*} \right)^n C_S}{K_S \left(1 - \frac{C_i}{C_i^*} \right)^m + C_S} \right) \quad \text{Eq. (32)}$$

Onde: C_i : concentração do substrato inibidor ($M.L^{-3}$); C_i^* : concentração do substrato inibidor para qual a atividade cessa ($M.L^{-3}$); k_i : constante de inibição ($M.L^{-3}$); n, m : parâmetros.

Conforme relata FURIGO (1999), o modelo de ANDREWS é utilizado para o caso em que o próprio substrato é o agente inibidor. O modelo de ANDREWS recai na equação de Monod quando os valores de k_i são elevados em relação a C_s , uma vez que pode-se desprezar o termo C_s^2/k_i . Então, nesta situação específica, não existe inibição das células pelo substrato. Entretanto, a medida que o valor de K_i diminui, o efeito inibitório aumenta.

Com relação ao modelo de Andrews Modificado, FURIGO (1999) comenta que o parâmetro n foi introduzido com o objetivo de acentuar a influência da inibição causada pelo substrato. Para $n = 1$, o modelo de Andrews Modificado recai no modelo Andrews.

O modelo de Andrews foi utilizado por DAVIES-VENN *et al.* (1992) e KIM *et al.* (1994) para expressar a cinética de biodegradação de compostos xenobióticos sob condições anaeróbias. Entretanto, segundo GRADY (1990), vários pesquisadores questionam o emprego do modelo de Andrews pelo fato de ser inadequado para prever a concentração de substrato crítica para a qual o crescimento celular cessa. Nesse caso, o modelo de HANS e LEVENSPIEL (1988) é capaz de descrever este fenômeno.

Os modelos apresentados nas Equações 27, 28 e 29 foram utilizados por inúmeros pesquisadores. JIN e BHATTACHARYA (1996) empregaram os modelos para inibição competição competitiva, incompetitiva e não - competitiva para modelar e identificar o tipo de inibição causada pelo PCP.

Segundo GRADY (1990), um outro modelo adequado para representar a cinética de muitos compostos xenobióticos é o modelo de Monod. Experimentos de biodegradação realizados por GRADY (1990) com 20 compostos xenobióticos mostraram que o modelo de Monod é satisfatório para expressar a cinética de biodegradação intrínseca para compostos xenobióticos em concentrações em que não existe inibição, e ainda, surpreendentemente mesmo quando a concentração do composto é inibitória.

2.2.2 Macrocinética

Independentemente da configuração de reator adotada, VIÑAS (1994) comenta que o bom funcionamento da digestão anaeróbia está estreitamente ligado à transferência de massa aos microorganismos, que por sua vez é afetada pelas características do substrato (solúvel, particulado, coloidal), pela forma em que os microorganismos estão dispostos no reator (dispersa ou fixa) e pela fluidodinâmica do sistema.

Uma vez que os biorreatores constituem-se em sistemas trifásicos, onde estão presentes as águas residuárias a serem tratadas, os sólidos biológicos e os gases produzidos durante o processo, ANDRADE (1995) menciona que a caracterização hidrodinâmica de um biorreator anaeróbio é uma tarefa difícil. Devido à diversidade de populações microbianas e variedade de substratos, dependendo das condições ambientais, os microorganismos são capazes de modificar as características do meio, influir na distribuição dos sólidos ao longo do reator (quando em suspensos) e na taxa de produção de biogás, tornando inviável a padronização do escoamento.

De acordo com LEMA *et al.* (1992), o regime hidráulico de um reator influi diretamente sobre aspectos como distribuição dos produtos (especialmente produtos intermediários), conversão final e desenvolvimento de grupos tróficos.

É importante ressaltar a grande influência da hidrodinâmica na cinética das reações biológicas, pois o conhecimento de como se dá o escoamento dentro da unidade de tratamento pode levar a modelos cinéticos mais realistas (ANDRADE, 1995).

De acordo com VIÑAS (1994), normalmente o modelo hidrodinâmico de um biorreator anaeróbio engloba os principais fenômenos, servindo-se de uma série de hipóteses simplificadoras. Geralmente são utilizados modelos do tipo reator contínuo agitado ideal (CSTR) ou o reator do tipo pistonado (PFR), ou ainda combinações destas duas configurações incluindo volumes mortos e/ou curto-circuitos, conforme mostrado na Figura 10, muito embora a distribuição dos componentes ao longo do eixo z esteja longe da uniformidade.

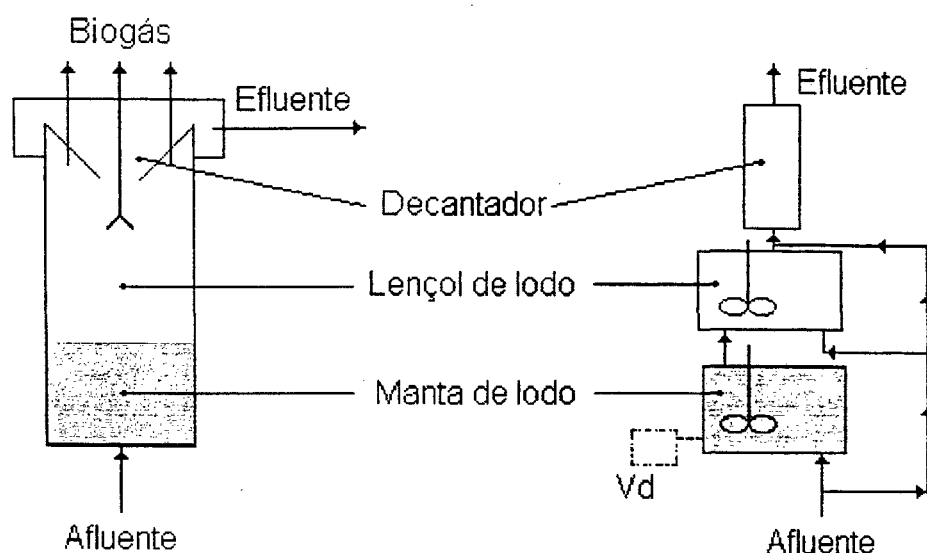


Figura 10 – Exemplo de diagrama de blocos para um reator de manta de lodo e fluxo ascendente utilizado na modelagem hidrodinâmica.

Vários estudos vem sendo realizados para avaliar os efeitos da transferência de massa sobre a cinética de utilização do substrato. CAMPOS (1994) comenta que o estudo da cinética dos bioprocessos está relacionada com o fluxo dos substratos para o interior dos agregados de microorganismos e com o fluxo de subprodutos do metabolismo, no sentido inverso. Desta forma, LEMA *et al.* (1991) relata a existência de duas resistências diferentes à transferência de massa nos sistemas anaeróbios: (i) a resistência externa, devido à difusão dos substratos no meio líquido, a resistência ao transporte dos substratos e produtos na interface sólido-líquido e à difusão dos produtos, especialmente gases, na interface sólido-líquido, ao meio líquido e fase gasosa; (ii) a resistência interna, relacionada à estrutura do *pellet* (porosidade, tortuosidade) e tamanho do agregado bacteriano.

Durante o transporte do substrato do meio líquido para a superfície do agregado, diferentes mecanismos devem ser considerados. A velocidade de transferência externa de massa nos grânulos, segundo GRADY e LIM (1980) pode ser determinada via correlações semi-empíricas disponíveis na literatura. Já no interior da matriz biológica, PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ (1991) relatam que o transporte de massa é considerado difusivo e modelado pela lei de Fick.

Segundo LAMOTTA e SHIEH (1979) citado por PAVLOSTATHIS e GIRALDO-GOMEZ (1991), a avaliação das constantes cinéticas de um sistema no qual a resistência à difusão é significativa implica em sérios erros experimentais. O valor da constante de saturação (K_s) aumenta com o aumento nas limitações de transferência de massa.

Um modelo dinâmico desenvolvido para um reator do tipo UASB incluindo os aspectos hidrodinâmicos, cinética das reações e transferência de massa nos grânulos anaeróbios foi proposto por WU e HICKEY (1997). O modelo de fluxo empregado é composto por um reator de mistura não ideal (CSTR) e um reator do tipo pistonado com dispersão (PFR) em série. Os resultados indicaram que nenhum dos três fatores (hidráulica, difusão e cinética) podem ser ignorados na modelagem dinâmica do biorreator. A cinética e a difusão mostraram ser termos importantes na caracterização adequada do funcionamento do reator UASB. Foi observada uma grande diferença nas respostas em sistemas de células dispersas (modelo hidráulica + reação) e nos sistemas de biofilmes (modelo hidráulica + reação + difusão), o que comprova o efeito significativo da difusão. Foi verificado que, em sistemas de manta de lodo granular, quando a mistura completa é fornecida, a velocidade de utilização do substrato depende do transporte de substrato e da cinética.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentadas as formas de obtenção dos resultados desta pesquisa, no que se refere a materiais, procedimentos experimentais, métodos de medida e de determinação de parâmetros adotados.

3.1 MICROORGANISMOS

O lodo utilizado no teste de toxicidade anaeróbio e nos testes cinéticos é proveniente de um reator híbrido, formado pela combinação de um reator de manta de lodo e fluxo ascendente (UASB) e um filtro anaeróbio. A programação de partida e operação do reator híbrido foram realizadas segundo indicações de SOARES (1998) citado por MONTENEGRO (1999) e operado continuamente desde março de 1999. Tal sistema é mostrado na Figura 11.

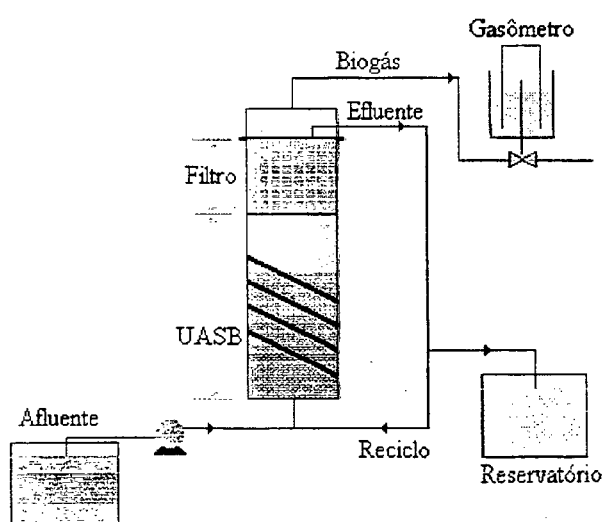


Figura 11 – Desenho esquemático do sistema utilizado no reator híbrido, de acordo com SOARES (1998) citado por MONTENEGRO (1999).

3.2 SUBSTRATOS E MEIOS DE CULTURAS

Os substratos utilizados tanto nos testes cinéticos quanto no teste de toxicidade anaeróbio consistiram de ácidos orgânicos voláteis (acético, propiônico, láctico e butírico) e metanol. Em termos de concentração, o teste de toxicidade anaeróbio, o ensaio cinético contendo uma mistura de ácidos e metanol e o teste realizado com somente um dos ácidos voláteis por vez (além do metanol) foram conduzidos segundo metodologia desenvolvida por MONTENEGRO (1999), detalhadas em MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000), cujas concentrações foram de 6,88 g DQO/l, 5,3 g DQO/l e 4,7 g DQO/l, respectivamente. A concentração de metanol utilizada no teste de toxicidade anaeróbio e nos ensaios cinéticos foram de 20 mM e 15,46 mM, respectivamente.

Na metodologia desenvolvida por MONTENEGRO (1999) são utilizados um meio de cultura proposto por ZINDER *et al.* (1984), uma solução de vitaminas e uma solução redutora, propostas por TOUZEL e ALBAGNAC (1983) citado por VAZOLLER (1995).

A solução de vitaminas e o PCP foram obtidos diretamente do Laboratório de Processos Anaeróbios (LPA) do Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos, USP.

3.3 MÉTODOS DE MEDIDA E CÁLCULO DE PARÂMETROS

Neste item são descritos os métodos de medida empregados na determinação da quantidade e composição do biogás formado, concentração dos ácidos voláteis, concentração de células (sólidos voláteis) e demanda química de oxigênio (DQO), além do procedimento adotado para o cálculo dos parâmetros cinéticos, inibição e produção de biogás teórico.

3.3.1 Quantidade e composição do biogás produzido

Para quantificação do biogás formado utilizou-se o sistema mostrado na Figura 12 proposto por SOARES (1999) citado por MONTENEGRO *et al.* (1999), no qual o volume de biogás produzido é medido pelo deslocamento de líquido na bureta (solução de Na_2SO_4 , concentração 250 g/l).

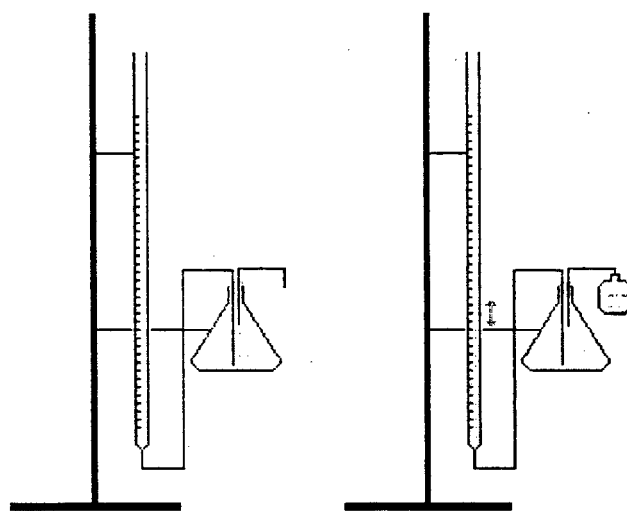


Figura 12 – Sistema utilizado para a medida de biogás de acordo com SOARES (1999) citado por MONTENEGRO *et al.* (1999).

O fator de correção entre o biogás medido no sistema para o biogás real foi determinado por meio de teste experimental e encontra-se disponível no Anexo 1.

Para a análise da composição dos biogás produzido no sistema em estudo utilizou-se um cromatógrafo a gás, aparelho da Instrumentos Científicos CG – modelo 35, com coluna Poropak – N (1,8 m de comprimento por 1/8 in de diâmetro), equipado com detector de condutividade térmica. O gás de arraste utilizado foi o hélio, a uma vazão de 0,1ml/s. A temperatura da coluna, do vaporizador e do detector adotadas foram próximas a 55°C, 60°C e 100°C, respectivamente.

A fim de quantificar as leituras das amostras, curvas de calibração com os padrões de metano e dióxido de carbono foram construídas. Para tal, foram conectadas mangueiras aos cilindros de gases. A seguir, fêz-se o gás borbulhar em um erlenmeyer contendo água. Após um certo período de tempo,

com o auxílio de uma seringa, amostras com diferentes volumes (0,1 a 1 ml) foram colhidas e injetadas no cromatógrafo. Anotou-se o valor da temperatura ambiente. A relação entre número de moles e área pico foi estabelecida através da lei dos gases ideais. Os resultados foram expressos em termos de percentagem molar tomando como base a mistura binária CO_2 e CH_4 .

3.3.2 Ácidos orgânicos voláteis

A metodologia adotada para determinação dos ácidos graxos voláteis no teste cinético de degradação de uma mistura de ácidos voláteis e metanol consistiu na adaptação da metodologia proposta por MORAES (1999). Inicialmente, é realizada a extração dos ácidos voláteis dispostos na fase aquosa para uma fase orgânica, dada por éter etílico. Para tal, uma amostra de 5 ml é colocada em um tubo de ensaio com tampa, juntamente com uma medida de cloreto de sódio, 150 μL do ácido capróico (padrão interno, concentração de 4g/l) e 1,0 ml de ácido sulfúrico (2 %). Após, são adicionados 2 ml de éter etílico purificado, e a amostra é levada ao vórtex por 1 minuto em agitação máxima. Por fim, centrifuga-se a amostra por 5 minutos em 700 rpm.

Como normalmente a leitura da amostra não era efetuada de imediato, após a adição de ácido, as amostras eram congeladas. No momento da medida, nas amostras já descongeladas, eram acrescentados o cloreto de sódio, o padrão interno e o éter etílico.

O éter etílico utilizado na extração foi submetido a um processo de purificação (para retirar a água e peróxidos presentes), consistindo em um pré-tratamento com permanganato de potássio seguido de destilação.

Os ácidos graxos voláteis foram analisados por cromatografia gasosa, utilizando um aparelho modelo HP6890 com um detector de ionização de chama e coluna Nukol (30,0 m por 250 μm), equipado com Software HP ChemStation (HP 3365 series II versão A.03.34) para aquisição dos dados, encontrado no Laboratório Integrado de Meio Ambiente (LIMA), do Departamento de Engenharia Sanitária, UFSC. As temperaturas do injetor e detector adotadas foram de 250 $^{\circ}\text{C}$ e 220 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente. A rampa de temperatura do forno empregada foi: 90 $^{\circ}\text{C}$ por 1 minuto; 90 a 100 $^{\circ}\text{C}$ a uma

taxa de 30 °C/min; 100 a 120 °C a uma taxa de 3 °C/min; 120 a 150 °C a uma taxa de 70 °C/min e 150 °C por 3 min. O fluxo dos gases N₂, H₂ e ar sintético foram 7 ml/min, 35 ml/min e 400 ml/min, respectivamente. A razão do *split* utilizada foi de 1:10.

A curva padrão foi construída com base na injeção de amostras com concentrações diferenciadas e conhecidas de cada um dos ácidos voláteis (acético, propiônico, iso-butírico, n-butírico e padrão interno). A curva foi estruturada para leitura de amostras nas seguintes concentrações: 0,250 - 4,996 mM para o ácido acético, 0,068 - 4,052 mM para o ácido propiônico, 0,057 - 3,405 mM para os ácidos n-butírico e iso-butírico. Para a leitura de amostras com concentrações superiores aos valores máximos de construção da curva padrão, foram efetuadas diluições.

A metodologia adotada para o teste cinético de degradação dos ácidos voláteis e metanol foi a mesma seguida no teste de degradação de uma mistura de ácidos voláteis e metanol, entretanto ao invés de utilizar-se o ácido capróico como padrão interno, passou-se a utilizar o ácido crotônico (200 µL de uma solução 700 mg/l). A rampa de temperatura empregada na coluna também foi alterada para 80 a 135 °C numa razão de 4 °C/min e a faixa de validade da curva padrão foi ampliada (600 mg/l).

3.3.3 Sólidos voláteis

Os sólidos voláteis foram determinados segundo metodologia proposta no Standards Methods, APHA (1995). A análise baseia-se na diferença de peso de uma amostra quando esta é submetida à secagem em estufa a 105°C (peso constante) e após, calcinação em mufla, a 600°C por duas horas.

3.3.4 Demanda química de oxigênio (DQO)

A determinação da DQO das amostras foi realizada pelo método de refluxo fechado, conforme procedimentos seguidos no Laboratório de Desenvolvimento de Processos Tecnológicos (LPDT), do Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos da UFSC. Por este método, a matéria orgânica presente na amostra é oxidada pela ação do dicromato de

potássio, em meio ácido, a 150°C por duas horas. A leitura é efetuada em absorbância, a 600nm, por meio de um espectrofotômetro (espectrofotômetro UV digital modelo 724 da Shangai Optical Instrument Factory). A seguir, a medida é relacionada a uma curva de calibração, construída a partir de amostras com concentrações conhecidas de biftalato de potássio (108 – 900 mg DQO/l).

O resultado final da análise expressa a quantidade de oxigênio proveniente do $K_2Cr_2O_7$, em mg/l, utilizado na oxidação da amostra.

3.3.5 Determinação dos parâmetros cinéticos

Para a determinação dos parâmetros cinéticos foram empregadas as Equações (33), (34), (35) e (36) oriundas da adoção da cinética de Michaelis-Menten, cinética de ordem zero, ordem um e ordem dois, respectivamente, bem como a aplicação de balanço material (balanço de massa global e por componente). É importante salientar que as equações (33), (34), (35) e (36) são válidas tanto para ensaios cujo volume do sistema é constante, quanto para ensaios com volume variável.

$$-\frac{dC_S}{dt} = \frac{V_{\max}C_S}{C_S + K_m} \quad \text{Eq. (33)}$$

$$-\frac{dC_S}{dt} = k_0 \quad \text{Eq. (34)}$$

$$-\frac{dC_S}{dt} = k_1C_S \quad \text{Eq. (35)}$$

$$-\frac{dC_S}{dt} = k_2C_S^2 \quad \text{Eq. (36)}$$

Onde C_S é a concentração do substrato ($M.L^{-3}$), k_m é a constante cinética de Michaelis ($M.L^{-3}$), k_0 , k_1 , k_2 são as constantes cinéticas das reações de ordem zero ($M.L^{-3}.T^{-1}$), um (T^{-1}) e dois ($L^3.M^{-1}.T^{-1}$), respectivamente e V_{\max} é parâmetro da cinética de Michaelis-Menten ($M.L^{-3}.T^{-1}$).

A determinação das constantes de velocidades k_0 , k_1 e k_2 foi efetuada segundo procedimento descrito por LEVENSPIEL (1974), a partir de regressão linear da Equações (34), (35) e (36) integradas.

Para a aplicação do modelo de Michaelis-Menten e determinação dos parâmetros cinéticos médios da comunidade microbiana mista (K_m e V_{max}) utilizou-se a metodologia proposta por COUNOTTE e PRINS (1979), cujo cálculo dos parâmetros é efetuado com base na Equação (37).

$$K_m \ln \frac{C_S}{C_{S_0}} + C_S - C_{S_0} = V_{max}t \quad \text{Eq. (37)}$$

A Equação (37) pode ser representada pela Equação (38), sendo esta a equação de uma reta.

$$Y = ax + b \quad \text{Eq. (38)}$$

Onde:

$$Y = K_m \ln \frac{C_S}{C_{S_0}} + C_S - C_{S_0};$$

$$a = V_{max};$$

$$x = t;$$

$$b = 0.$$

Uma vez que o valor de K_m é desconhecido, são arbitrados diversos valores para K_m de modo a obter valores positivos e negativos para o termo independente b . Para o valor de b nulo ($b = 0$), determinam-se os valores corretos para K_m e V_{max} .

3.3.6 Cálculo da Inibição

A inibição foi avaliada em termos da produção de biogás (teste de toxicidade) e da fração de conversão dos ácidos voláteis (testes cinéticos).

Para a avaliação da inibição no teste de toxicidade (ATA), foram adotadas três metodologias: método clássico, método de OWEN *et al.* (1978) e JIN e BHATTACHARYA (1996).

Pelo método clássico, a inibição é calculada traçando-se uma tangente à curva de produção de gás acumulado *versus* tempo no intervalo de maior variação. O grau de inibição é determinado utilizando-se a Equação (39):

$$I = \frac{V_0 - V_n}{V_0} \quad \text{Eq. (39)}$$

onde I é o grau de inibição, V_0 é o volume de biogás produzido em um dado intervalo de tempo no ensaio controle, V_n é o volume de biogás produzido em um dado intervalo de tempo no ensaio contendo PCP.

A segunda forma utilizada para avaliar a inibição causada do sistema pelo PCP é a desenvolvida por OWEN *et al.* (1978). Por este método, a inibição é determinada pelo decréscimo na velocidade de produção de biogás nas amostras contendo o composto tóxico e o controle. A velocidade de conversão do substrato em biogás foi definida como a relação entre o volume de gás produzido em um determinado espaço de tempo.

Por fim, no teste de toxicidade anaeróbia empregou-se a metodologia proposta por JIN e BHATTACHARYA (1996), na qual a toxicidade é definida pela diferença entre a produção de gás acumulada nas corridas contendo o tóxico e o controle, para uma concentração de substrato constante.

A avaliação da inibição nos testes cinéticos foi realizada de duas formas distintas: (i) em termos de fração de conversão dos ácidos, e (ii) em termos da velocidade inicial de utilização do substrato.

Para os testes cinéticos, a inibição foi determinada de duas formas distintas ((Equações (40) e (41)): (i) relacionado a fração de conversão dos ácidos nos ensaios contendo PCP e o controle (0 mg/l de PCP), e (ii) relacionado as velocidades iniciais de conversão dos ácidos nos ensaios controles (0 mg/l de PCP) aos ensaios contendo PCP.

$$I_X = \frac{X_0 - X_{PCP}}{X_0} \quad \text{Eq. (40)}$$

$$I_V = \frac{V_{AGV,0} - V_{AGV,PCP}}{V_{AGV,0}} \quad \text{Eq. (41)}$$

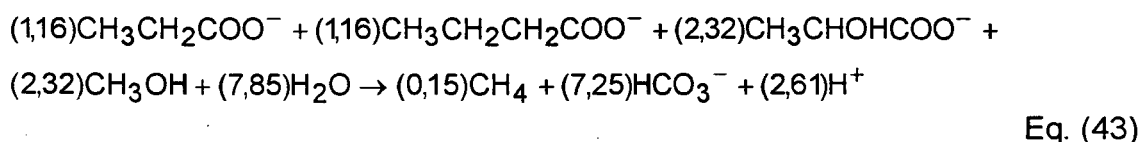
onde X_0 é a fração de conversão do substrato no ensaio controle, X é a fração de conversão do substrato no ensaio contendo PCP, I_x é o grau de inibição dado em termos de fração de conversão do substrato, $V_{AGV,0}$ é a velocidade inicial de conversão do substrato no ensaio controle ($M.L^{-3}.T^{-1}$), $V_{AGV,PCP}$ é a velocidade inicial de conversão do substrato no ensaio contendo PCP ($M.L^{-3}.T^{-1}$) e I_v é o grau de inibição dado em termos de velocidade inicial de conversão do substrato.

3.3.7 Cálculo da quantidade de biogás teórico

Duas foram as formas utilizadas para a determinação da quantidade de biogás teórico. A primeira baseia-se na relação estequiométrica mostrada na Equação (42) que diz que para cada 1 g de DQO consumida são formados 0,35 l de metano (1 atm e 0 °C).



A segunda forma baseia-se na obtenção de uma equação global que representa o processo de conversão como um todo. Tal equação é mostrada na Equação (43), obtida somando-se as equações de consumo dos ácidos acético, propiônico, butírico, láctico, metanol e as reações de equilíbrio do bicarbonato. Cabe ressaltar que os coeficientes estequiométricos da Equação (43) estão de acordo com quantidades dos substratos presentes nos testes cinéticos.



No Anexo 2 é mostrado em detalhes o procedimento seguido para obtenção da Equação (43).

3.4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.4.1 Teste de Toxicidade Anaeróbio

As etapas de preparação dos meios e soluções, bem como de manipulação e inoculação dos frascos testes (frascos de antibiótico de 50 ml de capacidade), foram feitas segundo MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000).

Uma vez adicionadas todas as soluções necessárias, lacrados os frascos e realizado a troca de atmosfera por nitrogênio gasoso, os frascos foram levados ao banho termostatizado (35°C) e iniciou-se a contagem do tempo. Nos tempos preestabelecidos fez-se a leitura do volume de biogás. Ao final do experimento foram feitas análises de DQO e composição do biogás.

A concentração de células empregada no ensaio foi de 3,2 g DQO/l e a DQO inicial teórica foi de 6,88 g/l. A concentração dos diversos ácidos empregados, bem como do metanol, é mostrado na Tabela 9.

Tabela 9 – Concentração dos ácidos voláteis e metanol empregados no teste de toxicidade.

<i>Substrato</i>	<i>Concentração (mmoles/l)</i>
Acetato	20
Propionato	10
Butirato	10
Lactato	10
Metanol	20
DQO TOTAL:	6,88 g/l

3.4.2 Teste cinético de degradação de uma mistura de ácidos voláteis

O teste cinético de degradação de uma mistura de ácidos voláteis foi realizado segundo metodologia proposta por YOUNG e TABAK (1993) modificado por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e

MONTENEGRO *et al.* (2000). O teste foi estabelecido a partir de concentrações variadas de PCP (0, 5 e 10 mg/l) em sistema de batelada (frascos Kolbe lacrados, volume final da solução 150 ml), com agitação, utilizando uma mistura de ácidos orgânicos (7,73 mM propiônico, 7,73 mM butírico, 15,46 mM láctico e 15,46 mM acético) e metanol (15,46 mM). A concentração de células empregada no ensaio foi de 4 g SSV/l e a DQO inicial teórica foi de 5,3 g/l (4,1 g DQO /l de ácidos voláteis).

Partindo-se das soluções estoques descritas por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000), foram adicionados 1,5 ml de cada uma das soluções aos frascos: solução de vitaminas, redutora, bicarbonato 10 % e solução de ácidos voláteis. Uma quantidade variável de solução de metanol foi acrescentado ao sistema visando suprir a mesma concentração de metanol em todos os ensaios, visto que a adição de PCP aos sistemas introduz uma certa quantidade de metanol. Desta forma, foi necessário adicionar 4,7 ml da solução de metanol no ensaio contendo 0 mg/l de PCP e 2,3 ml no ensaio contendo 5 mg/l de PCP. De modo a manter uma relação de 1 g DQO/g SSV, foram acrescentados 25,5 ml de lodo aos frascos (massa específica do lodo 1,005 g lodo/ml e 0,03 g SSV/g lodo). A quantidade da solução de PCP (16 mg/l de PCP em metanol) adicionada foi de 46,9 ml para o ensaio contendo 5 mg/l de PCP e 93,7 ml para o ensaio com 10 mg/l de PCP. O volume final desejado de meio de cultura nos frascos (150 ml) foi acertado através do meio de cultura Zinder. Por fim, os frascos foram incubados a 35°C por um período de cinco dias.

Durante o experimento foram retiradas amostras em tempos pré-estabelecidos para análise dos ácidos orgânicos. A quantidade de biogás produzida foi determinada segundo metodologia descrita anteriormente (item 3.3.1). Uma vez efetuada a retirada das amostras líquidas, estas foram filtradas com papel filtro comum, e o filtrado foi tratado segundo metodologia proposta no item 3.3.2.

O volume de amostra líquida retirada ao longo do experimento foi variável de modo a respeitar os limites da curva padrão dos AGV. A adição das diversas soluções e da biomassa foi efetuada conforme passos descritos por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000).

3.4.3 Teste cinético de degradação de ácidos voláteis

Da mesma forma que o teste cinético de degradação de uma mistura de ácidos voláteis, o presente teste seguiu a metodologia desenvolvida por YOUNG e TABAK (1993) modificada por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000). O ensaio foi realizado em sistema de batelada (frascos Kolbe lacrados, volume final das soluções nos frascos 100 ml) com agitação, variando-se o substrato e a concentração de PCP (0 e 10 mg/l), totalizando seis corridas (Figura 13): ensaio alimentado com ácido acético como principal substrato e 0 mg/l de PCP (ensaio 0A), ensaio alimentado com ácido acético e 10 mg/l de PCP (ensaio 10A), ensaio alimentado com ácido propiônico e 0 mg/l de PCP (ensaio 0P), ensaio alimentado com ácido propiônico e 10 mg/l de PCP (ensaio 10P), ensaio alimentado com ácido butírico e 0 mg/l de PCP (ensaio 0B) e ensaio alimentado com ácido butírico como principal substrato e 10 mg/l de PCP (ensaio 10B). Em todos os frascos foi mantida a mesma concentração de ácidos (4 g DQO-AGV/l) e a mesma quantidade de biomassa (1 g DQO/g SSV).

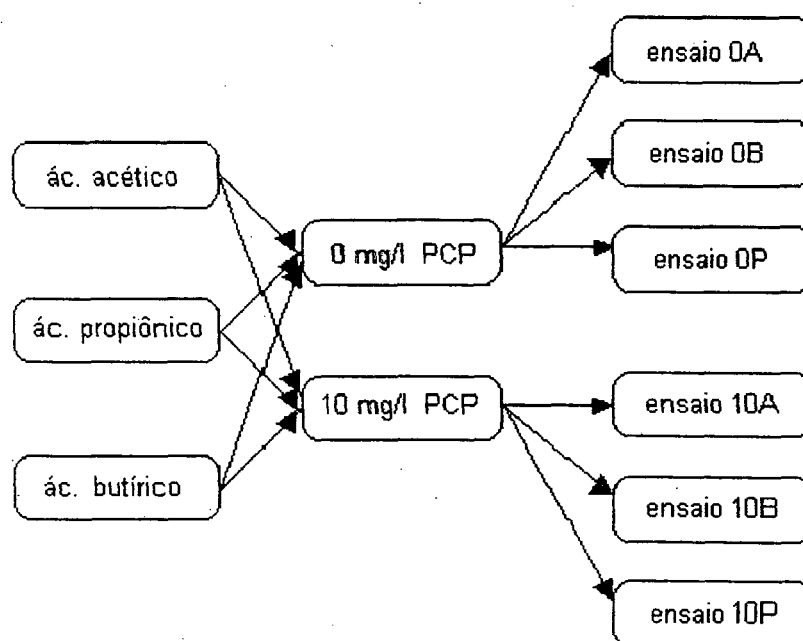


Figura 13 – Montagem do teste cinético.

A adição do substrato, biomassa, solução contendo pentaclorofenol, solução redutora, solução de vitaminas, solução de bicarbonato e meio de cultivo foi efetuada conforme passos descritos por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000). O volume utilizado de cada uma das soluções estoques, bem como a quantidade de lodo empregada, é mostrado na Tabela 10.

Tabela 10 – Quantidade adicionada das soluções estoques e de lodo nos diversos ensaios.

<i>Componentes</i>	<i>Volume adicionado (ml) nos diferentes ensaios</i>					
	0A	0P	0B	10A	10P	10P
Sol. bicarbonato (10%)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
sol. redutora	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sol. vitaminas	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sol. PCP	-	-	-	7,8	7,8	7,8
Sol. metanol	0,8	0,8	0,8	-	-	-
Sol. ácidos	3,1	3,6	2,5	3,2	3,6	2,5
Meio Zinder	69,6	69,1	70,1	62,5	62,1	63,1
lodo	23,5	23,5	23,6	23,5	23,5	23,6
TOTAL:	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Cabe ressaltar que a concentração de metanol nos frascos permaneceu constante em todos os ensaios realizados. O volume final desejado de meio de cultura nos frascos (150 ml) foi acertado através do emprego do meio de cultura Zinder.

Os frascos foram incubados a 35°C por um período de doze dias, sendo a amostragem realizada em tempos pre-estabelecidos. Ao longo do experimento foi acompanhada a concentração dos ácidos orgânicos e a produção de biogás.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo são apresentados os principais resultados desta pesquisa.

Inicialmente é realizada uma análise da influência do PCP sobre a atividade de uma comunidade microbiana anaeróbia baseado em dados da literatura. Tal análise foi realizada com o objetivo de avaliar as respostas dos sistemas biológicos frente a incrementos na concentração do pentaclorofenol. Cabe ressaltar que as discussões sobre esses resultados foram de fundamental importância para os testes experimentais posteriores uma vez que indicou as concentrações inibitórias de PCP e forneceu o procedimento experimental para os futuros ensaios.

A segunda parte do trabalho, apresentado na forma de artigo, refere-se a um ensaio que avalia a cinética de degradação de uma mistura de ácidos orgânicos em presença de PCP (0, 5 e 10 mg/l). Pelo fato dos microorganismos empregados neste experimento não estarem aclimatados ao tóxico, considerou-se desprezível a variação na concentração do PCP. Os resultados obtidos neste experimento não são comparados com os resultados do teste preliminar realizado anteriormente, já que o volume do sistema é variável devido à retirada de amostras líquidas.

A última parte do trabalho, o segundo artigo, foi elaborado visando estudar isoladamente os fenômenos de conversão de cada um dos diferentes substratos (ácido acético, propiônico e butírico) na presença do PCP. Contrariamente ao teste anterior, este experimento utiliza somente um dos ácidos voláteis por vez. A cinética de consumo de cada ácido é avaliada.

4.1 ANÁLISES PRELIMINARES:

**"Análise da influência do PCP sobre a atividade de uma comunidade
microbiana anaeróbia"**

ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DO PCP SOBRE A ATIVIDADE DE UMA COMUNIDADE MICROBIANA ANAERÓBIA

4.1.1 Introdução

A presente análise foi realizada com o intuito de avaliar o efeito tóxico do pentaclorofenol (PCP) sobre uma comunidade microbiana anaeróbia, proveniente de um reator híbrido, alimentada por uma mistura de ácidos orgânicos (propiónico, butírico, acético e láctico) e metanol. Para tal, foram analisados resultados experimentais de ensaios de toxicidade (ATA), realizados por MONTENEGRO (1999) e publicados por MONTENEGRO *et al.* (1999, 2000), que utilizava concentrações variadas entre 0 mg/l e 10 mg/l de PCP em sistema batelada. A inibição do processo foi avaliada de uma relação entre as curvas do volume de biogás produzido em função do tempo para os ensaios contendo PCP com o ensaio controle (0 mg/l de PCP). No estudo cinético realizado a partir dos modelos para inibição competitiva, incompetitiva e não-competitiva disponíveis na literatura, os valores encontrados para os parâmetros cinéticos K_s , K_d , K_i e μ_m para os diversos modelos foram próximos, na ordem de 600 mg/l, 0,001 mg/l, 3 mg/l e 0,01 hora⁻¹, respectivamente.

4.1.2 Resultados experimentais

Visando estudar a influência do composto tóxico nas reações anaeróbias específicas (acetogênese e metanogênese), MONTENEGRO (1999) realizou um ensaio de toxicidade a partir de concentrações variadas de PCP (entre 0 mg/l e 10 mg/l), em sistema batelada. Os resultados experimentais referentes ao volume de biogás produzido e à remoção de DQO, publicados por MONTENEGRO *et al.* (1999, 2000), são apresentados a seguir.

4.1.2.1 Volume e composição do biogás produzido

A Figura 1 relaciona a produção de biogás acumulado com o tempo de experimento para os diferentes ensaios realizados.

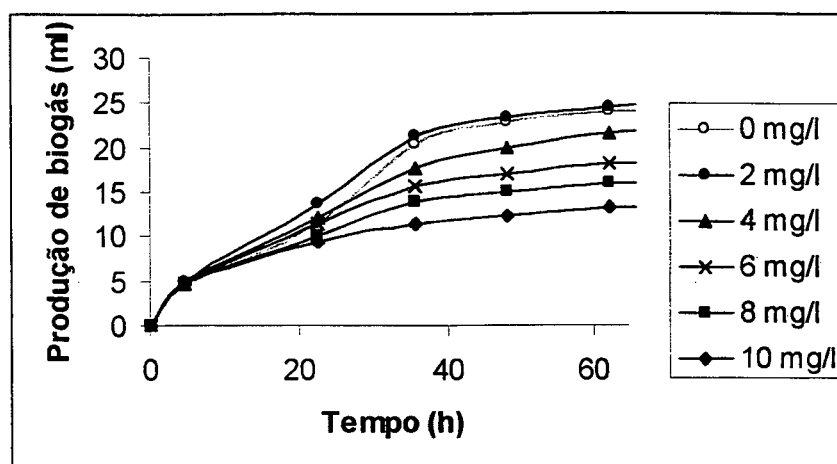


Figura 1 - Produção de gás acumulado com o tempo para as diferentes concentrações de PCP (mg/l) testadas (MONTENEGRO *et al.*, 1999, 2000)

Observa-se que, ao longo do experimento, o ensaio com 2 mg/l PCP apresentou produção de biogás superior aos demais ensaios. Nas primeiras 4,5 horas de experimento, a produção de gás foi praticamente a mesma para todos os ensaios, sendo que as amostras com 2 mg/l e 4 mg/l de PCP seguiram com produção de gás superior ao controle. Para o ensaio com 2 mg/l, a produção de gás manteve-se superior durante todo o experimento, enquanto para 4 mg/l, somente até 22,5 horas. Nos ensaios contendo 6, 8 e 10 mg/l de PCP, a quantidade de biogás formado foi inferior ou igual ao controle. Verificou-se que após 48 horas de teste, a produção de biogás havia praticamente estabilizado para todos os ensaios. Após 62 horas, a formação de biogás foi considerada nula. Notou-se ainda que, a medida que a concentração de PCP nos frascos era aumentada, o volume acumulado de gás ao final do teste diminuía, conforme mostrado na Tabela 1, salvo o ensaio com 2 mg/l de PCP. Tal fato evidencia o aumento do efeito inibidor do PCP em relação à sua concentração.

Tabela 1 – Produção de biogás acumulado e composição do biogás ao final do experimento (MONTENEGRO *et al.*, 1999, 2000)

Concentração PCP (mg/l)	0	2	4	6	8	10
Volume de biogás (ml)	24,0	25,0	22,1	18,6	16,2	12,8
Composição do biogás (% CH ₄)	59,7	60,4	57,6	57,9	55,5	55,6

Peia Tabela 1 pode-se verificar que o percentual de metano encontrado ao final do experimento variou entre 55 % e 60 %. O valor do percentual de metano no biogás obtido está de acordo com SPEECE (1996). Observou-se que a presença de PCP nos ensaios não interferiu drasticamente na composição do biogás, quando comparado com o volume total de biogás produzido. Este fato sugere uma inibição homogênea sobre todos os grupos bacterianos envolvidos.

4.1.2.2 Remoção de DQO

Com relação a DQO final, notou-se que quanto maior a quantidade de PCP no frascos, maior foi o valor da DQO encontrada ao final do experimento. Os valores medidos de DQO final para os diferentes ensaios, assim como o percentual de remoção de DQO (relativo à DQO teórica inicial de 6,88 g/l) estão mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Remoção de DQO (MONTENEGRO *et al.*, 1999, 2000).

Concentração PCP (mg/l)	DQO* (mg/l)	Remoção de DQO (%)
0	280,6	95,9
2	730,5	89,4
4	504,7	92,7
6	1670,6	75,7
8	1701,1	75,3
10	1715,0	75,1

* média de três ensaios

Por se tratar de um sistema anaeróbio, o valor encontrado para o percentual de remoção de DQO no ensaio controle mostra que o substrato foi consumido de acordo com o esperado. Pelo fato de ser convertido quase que totalmente, expressa a inexistência de inibição.

Já para os demais ensaios, a medida que a concentração de PCP nos frascos foi aumentada, a remoção de DQO diminuiu. Para os ensaios com concentração de PCP acima de 6 mg/l, os valores foram considerados baixos para digestão anaeróbia, indicando haver inibição.

Observou-se que o percentual de remoção de DQO, em geral, diminui com o aumento da concentração de PCP.

4.1.2.3 - Velocidade de conversão substrato-produto (biogás)

Os valores máximos de velocidade de produção de gás foram encontrados nas primeiras 4,5 horas, onde as velocidades das corridas contendo PCP foram pouco superiores ao controle. Observou-se, neste intervalo de tempo, valores de velocidade de conversão próximos entre si (Figura 1), indicando ausência de inibição neste período.

No período entre 4,5 horas e 63 horas, verificou-se uma diminuição progressiva na velocidade de conversão em todas as corridas. Constatou-se que quanto maior a concentração de PCP nos frascos, menor a velocidade de formação de biogás.

A corrida com 2 mg/l de PCP destacou-se dos demais ensaios pelo fato de apresentar velocidade de conversão superior ao controle durante todo o intervalo de tempo estudado, sugerindo um estímulo ao processo.

O ensaio com 4 mg/l de PCP apresentou velocidade de consumo de substrato próxima às obtidas no controle, conforme mostrado na Tabela 3. Este comportamento sugere que, neste estudo, a concentração de 4 mg/l de PCP é a concentração limite entre o estímulo e a inibição.

Tabela 3 – Velocidade de conversão do substrato para ensaios com 0 e 4 mg/l de PCP expressa em ml de biogás produzido/h (MONTENEGRO *et al.*, 1999, 2000).

<i>Tempo (h)</i>	<i>0 mg/l PCP</i>	<i>4 mg/l PCP</i>
2,25	23,3	26,7
13,45	9,5	11,5
41,83	4,5	3,9
55,17	2,0	1,8
80,00	0,3	0,6

4.1.2.4 Inibição

A inibição dos sistemas pelo PCP usando o método tradicional é mostrada na Figura 2.

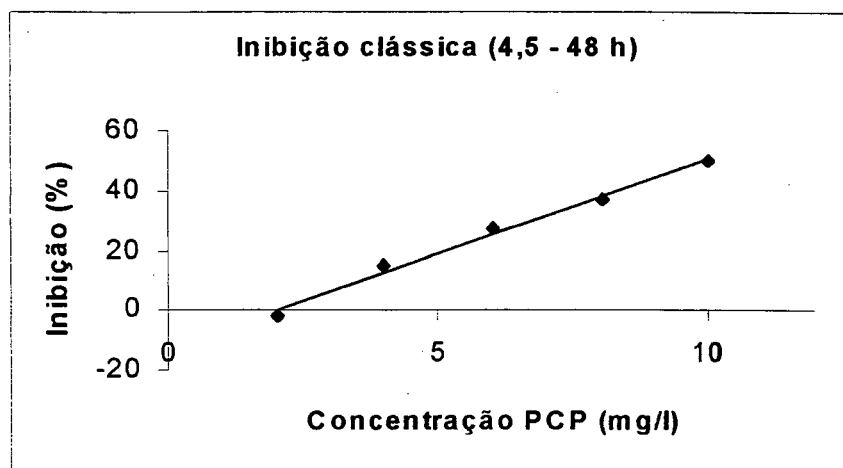


Figura 2 – Inibição pelo método tradicional.

A outra forma de representar a inibição é a mostrada na Figura 3, cujos cálculos baseiam-se na relação entre a produção acumulada de gás nas corridas contendo PCP (2, 4, 6, 8 e 10 mg/l) e o controle (0 mg/l).

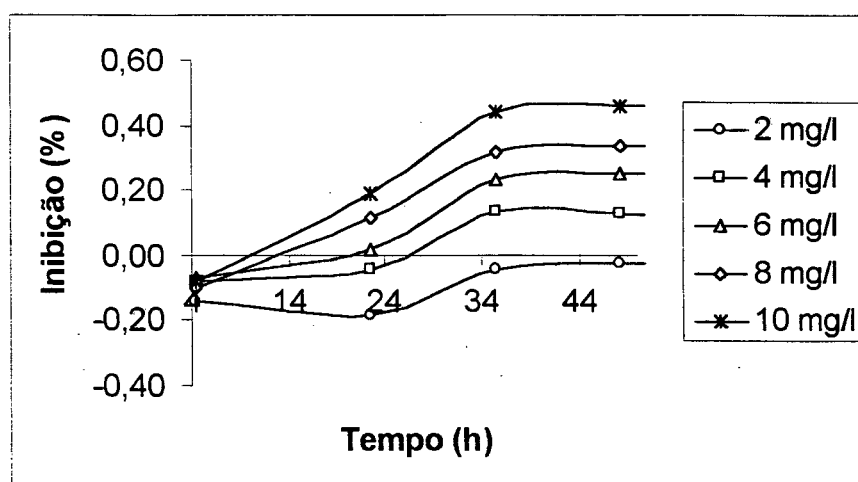


Figura 3 – Inibição segundo método proposto por OWEN *et al.* (1978).

Analisando-se a Figura 3 observa-se que, a medida que o experimento avança, a diferença entre o volumes de biogás produzido no ensaio contendo PCP e no ensaio controle aumenta, até que em 62 horas atinge um valor praticamente constante para todos os experimentos. Ao final do teste, foram obtidos os maiores percentuais de inibição, chegando a atingir, aproximadamente, 13%, 25%, 33% e 46% para as corridas com 4, 6, 8 10 mg/l PCP, respectivamente. Na corrida com 2 mg/l não foi evidenciada inibição, havendo um percentual de estímulo máximo de 18%.

Por outro lado, se avaliarmos a inibição em termos da velocidade de produção de gás por tempo entre as corridas com PCP e o controle para a mesmas concentrações de substrato (JIN e BHATTACHARYA, 1996), o percentual de inibição ao final do teste será próximo para todos os ensaios, conforme apresentado na Tabela. 4.

Tabela 4 - Valores máximos de inibição (%) no final do teste.

12	14	16	18	110
97,16	94,02	97,09	87,18	95,98

Assim, pela Tabela 4, os valores calculados indicam que após cessada a produção de gás, todos ensaios tendem a ser completamente inibidos.

A Tabela 5 sintetiza os valores calculados para a inibição pelos diferentes métodos.

Tabela 5 – Comparação dos valores calculados para a inibição.

<i>PCP</i> (mg/l)	<i>Inibição</i> <i>Clássica</i>	<i>Inibição</i> <i>OWEN et al. (1979)</i>	<i>Inibição</i> <i>JIN e BHATACHARYA (1996)</i>
0	-	-	-
2	-2	-4	97
4	15	8	94
6	27	23	97
8	37	32	87
10	51	44	96

4.1.2.5 Cinética

Para a determinação da cinética de inibição, foram utilizados os modelos tradicionais disponíveis na literatura, cujos parâmetros cinéticos K_s , K_d , K_i e μ_m foram obtidos por meio de um algoritmo de otimização desenvolvido em linguagem Turbo Pascal 7.0 no qual a função objetivo foi minimizada (situação de produção de gás nula). A concentração do inibidor foi considerada constante ao longo do experimento.

Os valores obtidos para os parâmetros K_s , K_d , K_i e μ_{max} são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Parâmetros cinéticos médios encontrados para o sistema em estudo.

Tipo de inibição	K_s (mg/l)	K_d (mg/l)	K_i (mg/l)	μ_m (h ⁻¹)	resíduo
Competitiva	$5,1 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^{-3}$	$1,0 \cdot 10^1$	$1,09 \cdot 10^{-2}$	$3,75 \cdot 10^{-5}$
não –competitiva	$6,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^{-3}$	$3,9 \cdot 10^1$	$1,43 \cdot 10^{-2}$	$4,48 \cdot 10^{-5}$
Incompetitiva	$6,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^{-3}$	$3,1 \cdot 10^1$	$1,43 \cdot 10^{-2}$	$4,61 \cdot 10^{-5}$

Pelo fato de que os valores obtidos para os parâmetros cinéticos e o resíduo das funções propostas serem muito próximos (na ordem de 10^{-5}), não foi possível determinar que tipo de inibição que o PCP provoca sobre o sistema.

4.1.3 Conclusões

Nas condições experimentais avaliadas as seguintes conclusões foram obtidas:

Verificou-se que a adição de 2 mg/l de PCP provoca um estímulo ao processo de até aproximadamente 18%, pelo método proposto por OWEN *et al.* (1978) e 2% pelo método tradicional.

A concentração de 4 mg/l de PCP mostrou ser aquela que encontra-se no limite entre o estímulo e a inibição do sistema.

Inibição nos ensaios com 6, 8 e 10 mg/l de PCP foi constatada pela diferença entre o volume de biogás produzido ao final do teste e pela remoção de DQO.

O ensaio com 10 mg/l de PCP foi o que apresentou a maior inibição do sistema, cerca de 46 %, pelo método de OWEN *et al.* (1978) e 51 % pelo método tradicional.

A forma clássica encontrada para representar a inibição e a proposta por OWEN *et al.* (1978) apresentaram resultados parecidos, mostrando serem adequadas para representar o fenômeno.

O método desenvolvido por JIN e BHATTACHARYA (1996) foi adequado para descrever a inibição ao final do experimento, uma vez que esta atingiu valores próximos a 100%.

Através do estudo cinético, se pode concluir que nenhuma das funções utilizadas é adequada para representar a inibição que o PCP causa sobre o sistema.

4.2 ARTIGO 1:

**" ESTUDO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DE UMA MISTURA DE
ÁCIDOS VOLÁTEIS EM PRESENÇA DE PENTACLOROFENOL "**

ESTUDO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DE UMA MISTURA DE ÁCIDOS VOLÁTEIS EM PRESENÇA DE PENTACLOROFENOL

Palavras-chaves: pentaclorofenol, cinética, inibição, ácidos voláteis, degradação.

Resumo

A presente pesquisa avalia a cinética de degradação anaeróbia de uma mistura de ácidos orgânicos (acético, propiônico e butírico) em presença de pentaclorofenol (0, 5 e 10 mg/l). O teste foi estabelecido a partir de um protocolo experimental existente para avaliação do efeito de compostos orgânicos tóxicos em sistemas anaeróbios e de um procedimento experimental para realização do teste de toxicidade anaeróbio proposto por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000). O ensaio foi conduzido em sistema de batelada, onde foi acompanhada a concentração dos diferentes ácidos orgânicos voláteis ao longo do tempo. A partir dos dados experimentais verificou-se que o PCP inibiu de forma pouco expressiva o consumo dos ácidos acético e butírico. A maior inibição do PCP foi constatada na degradação deste ácido, chegando-se a observar uma produção deste ácido no ensaio contendo 10 mg/l de PCP. Para o ajuste dos dados de concentração dos ácidos voláteis com o tempo, foram utilizadas cinéticas de ordem zero, um, dois, além do modelo de Michaelis-Menten. Observou-se que, trabalhando-se em termos de um ácido total (obtido pela soma das concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico), os ensaios são adequadamente representados por uma cinética de primeira ordem, cuja constante cinética é expressa como uma função da concentração de PCP. Tanto o modelo de Michaelis-Menten, quanto as cinéticas de ordem zero e dois, foram inadequados para descrever os resultados experimentais.

4.2.1 Introdução

O pentaclorofenol (PCP) é um composto halogenado utilizado em uma grande variedade de aplicações biocidas. É empregado como fungicida, agente antibacteriano, preservativo de pinturas, couro, tecidos, madeira, etc. Segundo WOODS *et al.* (1989), sob condições anaeróbias, o PCP é degradado por meio de reações de desalogenação redutiva, onde o cloro da molécula é permutado por um átomo de hidrogênio. De acordo com MOHN e TIEDJE (1992), a desalogenação redutiva é um processo de importância ambiental, uma vez que geralmente produz compostos menos tóxicos e menos persistentes nos ambientes. A desalogenação redutiva de clorofenóis tem sido observada, segundo NICHOLSON *et al.* (1992), em culturas anaeróbias aclimatadas e não-aclimatadas, sedimentos e aquíferos.

Segundo LARSEN *et al.* (1991), vários são os fatores que afetam a biodegradação dos clorofenóis (temperatura, salinidade, pH, microorganismos, potencial redox, exposição prévia e presença de fontes suplementares de carbono), porém pouco se sabe a respeito do efeito de fatores ambientais e das fontes suplementares sobre a desalogenação de compostos cloroaromáticos.

Estudos desenvolvidos por HENDRIKSEN *et al.* (1992), NIES e VOGEL (1990), GIBSON e SUFLITA (1990) e WU *et al.* (1993) mostram que, a adição de substratos orgânicos estimula a biodegradação de clorofenóis. O efeito positivo da adição de glicose como fonte suplementar de carbono na descloração do PCP foi avaliada por HENDRIKSEN *et al.* (1992). Foi observado que a adição de glicose como fonte extra de carbono aumentou a remoção de PCP e seus intermediários em cerca de 38%. Os efeitos da adição de acetona, acetato, metanol e glicose como substratos orgânicos no processo de desalogenação redutiva de bifenilas policloradas (PCBs) foram avaliados por NIES e VOGEL (1990). Dentre os substratos orgânicos testados, os ensaios realizados com glicose foram os que removeram mais rapidamente e extensivamente o inibidor, seguidos daqueles que utilizaram a acetona. Os ensaios alimentados com acetato foram os que tiveram o menor grau de descloração. As velocidades e a extensão iniciais da descloração nos ensaios contendo metanol foram semelhantes aos encontrados nos ensaios efetuados

com acetato porém, com o passar do tempo, superaram os obtidos com acetato. Estudos desenvolvidos por GIBSON e SUFLITA (1990) comprovam um estímulo no metabolismo de um herbicida halogenado (2,4,5-T) quando os ácidos butírico e propiônico, assim como o etanol, são acrescentados ao sistema. WU *et al.* (1993) estudaram a biodegradação de PCP utilizando culturas aclimatadas e não aclimatadas ao tóxico e uma mistura de ácidos voláteis de cadeia curta e metanol como substrato. Os autores constataram que, dentre os substratos testados, a degradação do ácido propiônico é grandemente afetada pela presença do PCP, seguido do ácido butírico (em menor extensão) e ácido acético.

O presente trabalho visa avaliar a cinética de degradação de uma mistura de ácidos voláteis (ácido acético, propiônico e butírico), co-substratos importantes no processo de desalogenação redutiva, em sistemas anaeróbios contendo diferentes concentrações do pentaclorofenol (PCP) utilizando para tanto o protocolo experimental de autoria de YOUNG & TABAK (1993) modificado por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000).

4.2.2 Materiais e Métodos

4.2.2.1 Soluções estoque

As soluções estoque empregadas nesse experimento foram as propostas por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000): (a) meio de cultura Zinder (adaptado de ZINDER *et al.*, 1984, citado por VAZOLLER, 1995): NH_4Cl (0,5 g/l), KH_2PO_4 (0,4 g/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g/l), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,05 g/l), sol. rezarzurina 0,1% (0,1 ml/l), solução traço de metais (10 ml/l); (b) solução traço de metais: NTA (4,5 g/l), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,556 g/l), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,086 g/l), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,17 g/l), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,21 g/l), H_3BO_3 (0,19 g/l), NiCl_2 (0,02 g/l) e Na_2MoO_4 (0,01 g/l); (c) solução de vitaminas (adaptado de TOUZEL e ALBAGNAC (1983, citado por VAZOLLER, 1995): biotina (0,002 g/l), ácido fólico (0,002 g/l), tiamina HCl (0,005 g/l), riboflavina (0,005 g/l), ácido nicotínico (0,005 g/l), pantotenato de cálcio (0,005 g/l), piridoxina HCl (0,010 g/l), vitamina B_{12} (0,0001 g/l) e ácido

lipóico (0,005 g/l); (d) solução redutora: $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 5%; (e) solução de PCP em metanol (16 mg/l); (f) ácidos orgânicos: propiônico (1 M), butírico (1 M), láctico (2 M) e acético (2 M); (g) metanol (2 M), e (h) solução de bicarbonato 10 %.

4.2.2.2 Inóculo

O lodo utilizado neste experimento é proveniente de um sistema contínuo operado por MONTENEGRO (1999) e alimentado com uma mistura de ácidos (20 mM acético, 10 mM butírico, 20 mM láctico e 10 mM propiônico e 20 mM metanol) e metanol.

4.2.2.3 Métodos de medida

4.2.2.3.1 Determinação da concentração dos ácidos voláteis

A metodologia seguida para determinação dos ácidos graxos voláteis consistiu na adaptação do método desenvolvido por MORAES (1999). Os ácidos graxos voláteis foram analisados por cromatografia gasosa, utilizando um aparelho modelo HP6890 com um detector de ionização de chama e coluna Nukol (30,0 m X 250 μm). As temperaturas do injetor e detector adotadas foram de 250 °C e 220 °C, respectivamente. A rampa de temperatura do forno empregada foi: 90 °C por 1 minuto; 90 a 100 °C a uma taxa de 30 °C/min; 100 a 120 °C a uma taxa de 3 °C/min; 120 a 150 °C a uma taxa de 70 °C/min e 150 °C por 3 min. O fluxo dos gases N_2 , H_2 e ar sintético foram 7 ml/min, 35 ml/min e 400 ml/min, respectivamente, com uma razão de *split* de 1:10.

4.2.2.3.2 Massa específica do lodo e sólidos suspensos voláteis

Para a determinação da massa específica do lodo e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram seguidos os procedimentos descritos no Standards Methods, APHA (1995).

4.2.2.4 Procedimento experimental

O ensaio cinético foi desenvolvido com base na metodologia proposta por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000) para realização do teste de toxicidade anaeróbio e protocolo experimental de autoria de YOUNG e TABAK (1993).

O teste foi montado a partir de concentrações variadas de PCP (0, 5 e 10 mg/l) em sistema de batelada (frascos Kolbe de 150 ml lacrados), utilizando uma mistura de ácidos orgânicos (7,73 mM propiônico, 7,73 mM butírico, 15,46 mM láctico e 15,46 mM acético) e metanol (15,46 mM) como substrato.

Partindo-se das soluções estoques descritas por MONTENEGRO (1999) e MONTENEGRO *et al.* (1999, 2000), foram adicionados 1,5 ml de cada uma das soluções aos frascos: solução de vitaminas, redutora, bicarbonato 10 % e solução de ácidos voláteis. Uma quantidade variável de solução de metanol foi acrescentada ao sistemas visando suprir a mesma concentração de metanol em todos os ensaios, visto que a adição de PCP aos sistemas introduz uma certa quantidade de metanol. De modo a manter uma relação de 1 g DQO/g SSV, foram adicionados 25,5 ml de lodo aos frascos (massa específica do lodo 1,005 g lodo/ml e 0,03 g SSV/g lodo). A Demanda química de oxigênio inicial (teórica) empregada foi de 5,3 g DQO/l (ou 4,1 g DQO/l de ácidos voláteis). Por fim, o volume final desejado de meio de cultura nos frascos (150 ml) foi obtido através do meio de cultura Zinder. A ordem observada para a adição das diversas soluções, bem como os cuidados seguidos, encontram-se descritos em MONTENEGRO (1999^a, 1999^b, 2000).

Os frascos foram agitados e incubados a 35°C por um período de cinco dias. Durante o experimento, foram retirados volumes variáveis de amostras líquidas ao longo do tempo para análise dos ácidos orgânicos (AGV).

4.2.2.5 Cinética de degradação dos ácidos

De modo a determinar a cinética de degradação do ácido acético, propiônico, butírico e total (obtido pela soma das concentrações do ácido acético, propiônico e butírico), foram utilizadas cinéticas de ordem zero

(Equação (1)), um (Equação (2)) e dois (Equação (3)), além do modelo de Michaelis-Menten (Equação (4)).

$$r_S = -k_0 \quad \text{Eq. (1)}$$

$$r_S = -k_1 C_S \quad \text{Eq. (2)}$$

$$r_S = -k_2 C_S^2 \quad \text{Eq. (3)}$$

$$r_S = -\frac{V_{\max} C_S}{C_S + K_S} \quad \text{Eq. (4)}$$

onde C_S é a concentração do substrato ($M.L^{-3}$); k_0 é a constante da cinética de ordem zero ($M.L^{-3}.T^{-1}$); k_1 é a constante cinética de ordem um (T^{-1}); k_2 é a constante cinética de ordem dois ($L^3.M^{-1}.T^{-1}$); V_{\max} é parâmetro cinético do modelo de Michaelis-Menten ($M.L^{-3}.T^{-1}$); K_S é a constante de saturação ($M.L^{-3}$).

Os parâmetros k_0 , k_1 e k_2 foram estimados com base no método dos mínimos quadrados, minimizando o somatório do quadrado das diferenças entre as concentrações calculadas pelo modelo e os dados experimentais. Para um ajuste de primeira ordem, a função objetivo (FO) minimizada é mostrada na Equação (5):

$$FO = \sum_{i=1}^n \left(\ln \frac{C_{S0}}{C_{Si}} - k_1 t_i \right)^2 \quad \text{Eq. (5)}$$

onde C_{S0} é a concentração inicial do substrato no ensaio ($M.L^{-3}$); C_{Si} é a concentração do substrato no tempo t_i ($M.L^{-3}$); t é o tempo (T) e n refere-se às amostragens realizadas.

4.2.3 Resultados e Discussão

4.2.3.1 Degradação da mistura de ácidos

As Figuras 1, 2 e 3 apresentam as curvas de consumo dos ácidos acético, propiônico e butírico para os ensaios contendo 0, 5 e 10 mg/l de PCP, respectivamente.

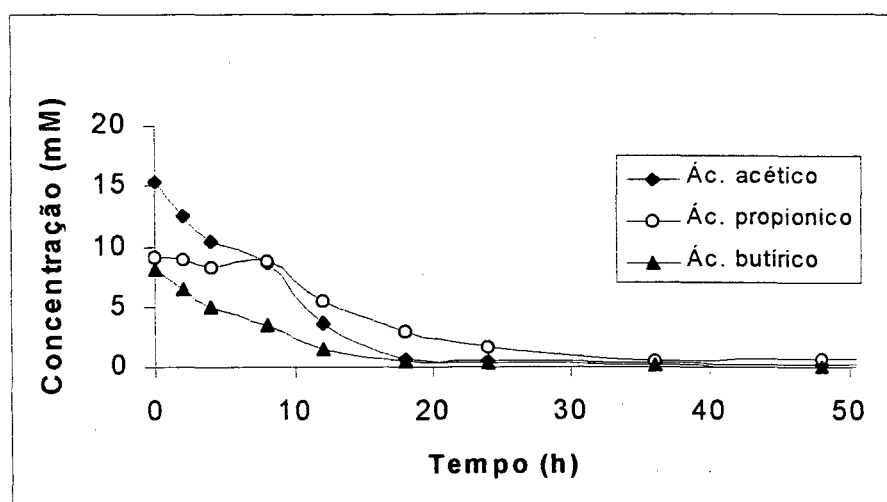


Figura 1 – Concentração dos ácidos voláteis no ensaio com 0 mg/l de PCP.

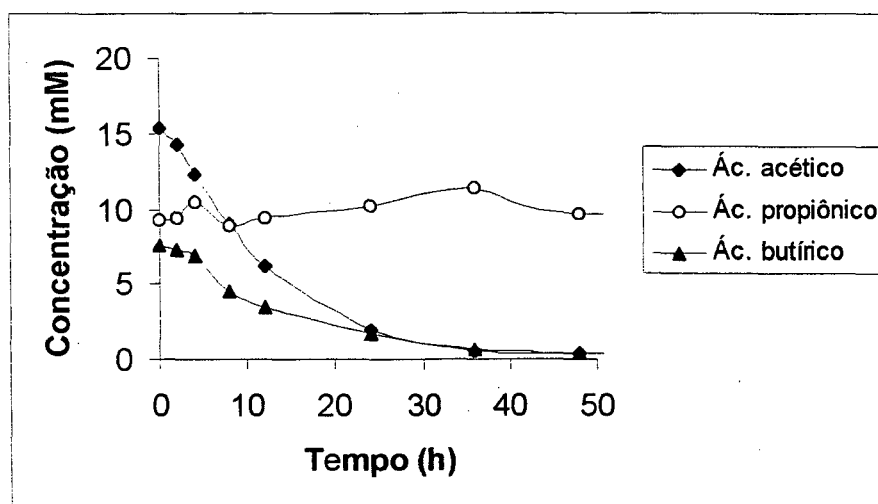


Figura 2 – Concentração dos ácidos voláteis no ensaio com 5 mg/l de PCP.

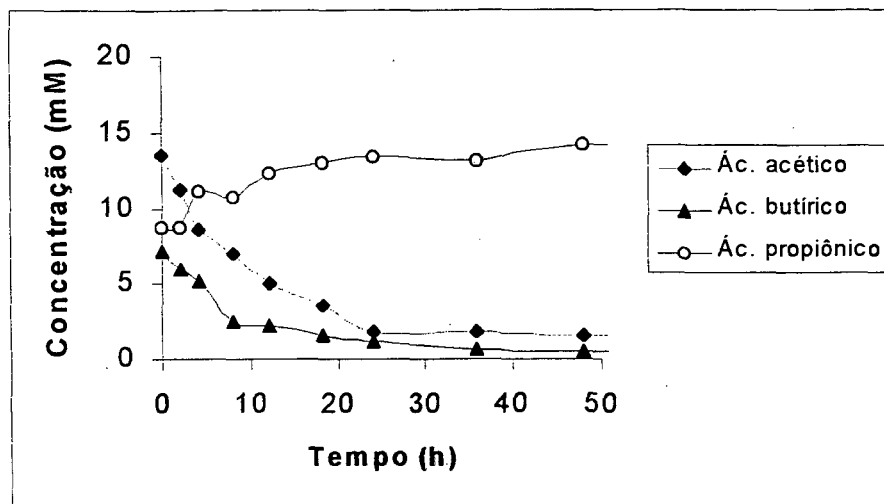


Figura 3 – Concentração dos ácidos voláteis no ensaio com 10 mg/l de PCP.

Para o ensaio controle (Figura 1), observa-se que os ácidos acético, propiônico e butírico são consumidos ao longo do tempo. Porém, constata-se que a concentração do ácido propiônico permanece constante nas primeiras 8 horas de experimento, sendo somente após este período degradado. Tal fato sugere a existência de uma fase de latência para o consórcio degradador de ácido propiônico, mesmo na ausência de PCP. Após 36 horas de teste, os ácidos foram totalmente utilizados.

Para o ensaio contendo 5 mg/l de PCP (Figura 2), apenas os ácidos acético e butírico apresentaram um consumo visível. Pela Figura 2 pode-se verificar que a presença de PCP em geral, diminui a velocidade de degradação dos ácidos acético e butírico, sugerindo uma pequena inibição, porém não afetando a degradação destes ácidos. Observa-se também que o PCP inibe totalmente a degradação do ácido propiônico, inclusive sugerindo um pequeno aumento na concentração deste no meio.

Para concentrações de PCP de 1 e 2,5 mg/l, WU *et al.* (1993) obtiveram resultados semelhantes aos apresentados. O ácido propiônico não foi degradado ao longo do tempo, o ácido butírico teve sua degradação pouco influenciada pelo PCP, e para o ácido acético (para 2,5 mg/l de PCP) observaram um período inicial de degradação seguido de geração.

No ensaio contendo 10 mg/l de PCP, a Figura 3 indica uma produção de ácido propiônico, chegando a atingir um valor quase duas vezes maior que o inicial. Como no substrato base não há um precursor direto do ácido propiônico, essa geração de ácido propiônico deve ser atribuída a metabólitos intermediários das células. Os ácidos acético e butírico sofreram uma degradação contínua ao longo do tempo, com uma inibição já constatada no ensaio com 5 mg/l de PCP.

De modo geral, observa-se que a medida que a concentração de PCP aumenta a velocidade de degradação diminui, porém essa diminuição não é expressiva. Pode-se afirmar que, na faixa de 0 a 10 mg/l de PCP, o PCP praticamente não inibiu os microorganismos consumidores de ácido acético e butírico.

A observação da existência de uma fase de latência para o consórcio degradador de ácido propiônico deve estar ligado às condições do sistema que interferem no equilíbrio e viabilidade das reações, como por exemplo pressão parcial de gases. A presença de PCP, independente de sua concentração, impede a degradação do ácido propiônico. Com o aumento da concentração de PCP para 10 mg/l, nota-se também uma geração de ácido propiônico no sistema.

A Figura (4) apresenta os resultados experimentais em termos de um ácido total, cuja concentração é dada pelo somatório das concentrações dos ácidos acético, propiônico e butírico.

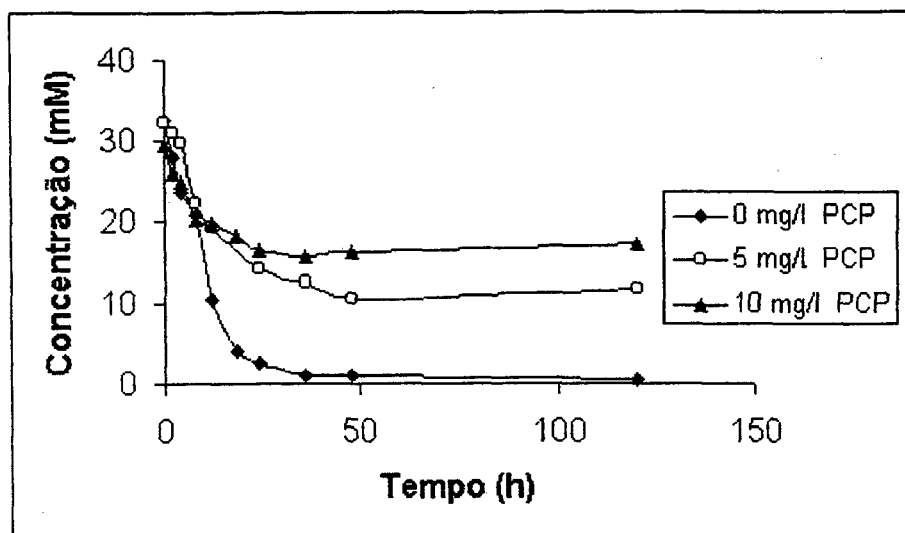


Figura 4 – Concentração do ácido total versus tempo para as diferentes corridas realizadas.

Analisando-se a Figura 4, nota-se claramente que o aumento na concentração do PCP interfere na velocidade de consumo, assim como na quantidade degradada do ácido total. A forma regular e progressiva da curva sugere que a adoção de um ácido total pode ser usada para representar o sistema em modelos cinéticos.

Para uma melhor visualização e análise dos fenômenos observados é apresentado no Anexo 3 as curvas de consumo do ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico nos diferentes ensaios.

4.2.3.2 Cinética de degradação do ácido total

Dentre os diferentes modelos cinéticos testados, verificou-se que, tanto no ensaio controle, quanto nos ensaios contendo PCP, a variação da concentração do ácido total com o tempo somente foi adequadamente representada por uma cinética de primeira ordem. Tal fato pode ser confirmado pela forma característica das curvas de degradação do ácido total na Figura 4. Os demais modelos avaliados (ordem zero, ordem dois e Michaelis - Menten) não se ajustaram satisfatoriamente aos dados experimentais.

A Tabela 1 mostra as equações cinéticas que representam os diferentes ensaios.

Tabela 1 – Constantes otimizadas para as cinéticas de primeira ordem.

Concentração de PCP (mg/l)	k_1 (mM/h)
0	0,0870
5	0,0266
10	0,0173

Analisando-se os valores obtidos para k_1 nos diferentes ensaios, observa-se a existência de uma relação linear ($R^2 = 0,9949$) entre o inverso da constante cinética, $1/k_1$ (h/mM) e a concentração de PCP (mg/l). Tal relação é expressa na Equação (7):

$$\frac{1}{k_1} = 4,644 * C_{PCP} + 12,434 \quad \text{Eq. (7)}$$

Desta forma, utilizando-se a Equação (7), chega-se ao modelo cinético mostrado na Equação (8), cuja expressão generalizada descreve a variação da concentração do ácido total (mM) com o tempo (h), válida para ensaios cuja concentração de PCP se encontra na faixa entre 0 e 10 mg/l.

$$\frac{dC_S}{dt} = - \left(\frac{1}{4,644 * C_{PCP} + 12,434} \right) * C_S \quad \text{Eq. (8)}$$

A Equação (8) pode ser empregada em trabalhos de simulação que visem o acompanhamento da concentração do substrato, bem como do tempo necessário para a degradação de uma certa quantidade de ácido, para as diversas concentrações de PCP.

A Figura 5 compara os resultados fornecidos pela simulação da Equação (8) com os dados experimentais.

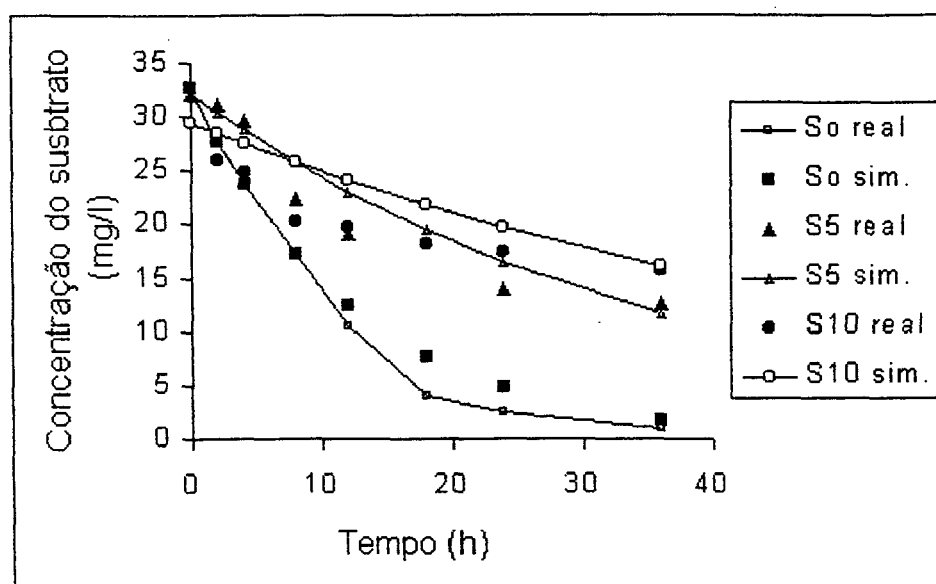


Figura 5 – Comparação dos resultados obtidos a partir da Equação (8) com os dados experimentais.

4.2.3.3 Inibição

Com relação à inibição do sistemas, fez-se uma análise em termos de conversão dos diversos ácidos estudados. A Tabela 2 resume os valores calculados para a conversão final dos diferentes ácidos e os valores calculados para a inibição (definida como a relação entre a conversão no ensaio controle e o ensaio contendo PCP).

Tabela 2 – Conversão e inibição nos diferentes ensaios.

Substratos	Conversão Final			Inibição	
	0 mg/l PCP	5 mg/l PCP	10 mg/l PCP	5 mg/l PCP	10 mg/l PCP
Ác. Acético	0,98	0,97	0,90	0,010	0,082
Ác. Butírico	0,98	0,96	0,90	0,020	0,082
Ác. Propiônico	0,98	-0,16	-0,70	Geração	Geração
Ác. Total	0,98	0,63	0,40	0,0357	0,592

A Tabela 2 mostra que, de uma forma global, o aumento da concentração do PCP resulta em um aumento na inibição. Para os ensaios com 5 e 10 mg/l de PCP, a degradação do ácido propiônico foi totalmente inibida. Com relação aos ácidos acético e butírico, observa-se que o percentual de inibição aumenta com a concentração de PCP, porém atinge valores pouco expressivos.

4.2.4 Conclusões

A partir da análise dos resultados conclui-se que as bactérias degradadoras de ácido propiônico são as únicas que sofrem uma influência considerável do PCP, sendo esse efeito uma função da concentração do inibidor no meio.

Verificou-se que, no ensaio controle, mesmo os microorganismos estando aclimatados ao substrato, o ácido propiônico somente foi degradado após 8 horas de experimento, indicando a existência de uma fase lag. Observa-se que, para 5 mg/l de PCP, o ácido propiônico não é degradado, ao passo que os ácidos acético e butírico atingem a mesma conversão obtida no ensaio controle, para um intervalo de tempo um pouco maior. Para 10 mg/l de PCP, uma produção de ácido propiônico é constatada e, novamente, a degradação dos ácidos acético e butírico praticamente não é afetada.

De uma forma geral constata-se que a inibição dos sistemas aumenta com a concentração do PCP no meio. Tanto para os ensaios contendo 5, quanto 10 mg/l de PCP, a degradação do ácido propiônico foi totalmente nula. No que se refere aos demais ácidos, um aumento desprezível na inibição é observado.

A degradação dos diferentes ácidos voláteis na presença de concentrações variadas de inibidor (0, 5 e 10 mg/l de PCP) é convenientemente representada por uma cinética de primeira ordem com relação à concentração do ácido total, cuja constante é função da concentração do inibidor. Tanto o modelo de Michaelis-Menten, quanto as cinéticas de

ordens zero e dois, foram inadequados para descrever os resultados experimentais

4.2.5 Referências Bibliográficas

APHA (STANDARD METHODS for the examination of water and wastewater. (1995). 19th edition. Publication Office American Public Health Association, Washington: APHA / AWWA / WEF).

GIBSON, A. S., SUFLITA, J. M. (1990). Anaerobic Biodegradation of 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid in Samples from a Methanogenic Aquifer: Stimulation by Short-Chain Organic Acids and Alcohols. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 6, p. 1825-1832.

HENDRIKSEN, H. V., LARSEN, S., AHRING, B. (1992). Influence of a Supplemental Carbon Source on Anaerobic Dechlorination of Pentachlorophenol in Granular Sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 1, p. 365-370.

LARSEN, S., HENDRIKSEN, H. V., AHRING, B. K. (1991). Potential for Thermophilic (50°C) Anaerobic Dechlorination of Pentachlorophenol in Different Ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 57, n. 7, p. 2085 – 2090.

MOHN, W. W., TIEDJE, J. M. (1992). Microbial Reductive Dehalogenation. *Microbiological Reviews*, v. 56, n.3, p. 482 – 507.

MONTENEGRO, M. A. P. (1999). Estudo da dinâmica de populações de microorganismos anaeróbios envolvidos na degradação de PCP em Reator Híbrido. São Carlos. 84 p. (Qualificação de doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo.

MONTENEGRO, M. A. P., VAZ, D. A., VAZOLLER, R. F., FURIGO Jr., A., SOARES, H. M. (1999). Efeito do PCP sobre a comunidade microbiana anaeróbia proveniente de um reator híbrido. II ENPROMER – Encontro de Engenharia de processo do Mercosul. Florianópolis, SC.

MONTENEGRO, M. A. P., VAZ, D. A., VAZOLLER, R. F., FURIGO Jr., A., SOARES, H. M. (2000). Effect of PCP on an Anaerobic Microbial Community Originated from a Hybrid Reactor. Artigo em fase de preparação.

MORAES, E. M. (1999). Determinação de ácidos voláteis em amostras de reatores anaeróbios por cromatografia gasosa. Manuais do LPB, Escola de Engenharia de São Carlos, USP.

- NICHOLSON, D. K., WOODS, S. L., ISTOK, J. D., PEEK, D. C. (1992). Reductive Dechlorination of Chlorophenols by a Pentachlorophenol-Acclimated Methanogenic Consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n.7, p. 2280-2286.
- NIES, L., VOGEL, T. M. (1990). Effects of Organic Substrates on Dechlorination of Arocolor 1242 in Anaerobic Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 9, p. 2612 – 2617.
- VAZOLLER, R. F.(1995). Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas. São Carlos. 259 p. (Tese de doutorado) Departamento de Hidraulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo.
- WOODS, S. L., FERGUSON, J. F., BENJAMIN, M. M. (1989). Characterization of Chlorophenol and Chloromethoxybenzene Biodegradation during Anaerobic Treatment. *Environ. Sci. Technol.*, v. 23, n. 1, p. 62 – 67.
- WU, W, BHATNAGAR, L., ZEIKUS, G. (1993). Performance of Anaerobic Granules for Degradation of Pentachlorophenol. *Applied and Environmental Microbiology*, v.. 59, n. 2, p. 389 –397.
- YOUNG, J. C., TABAK, H. H. (1993). Multilevel protocol for assessing the fate and effect of toxic organic chemicals in anaerobic treatment processes. *Water Environment Research*, v. 65, n. 5, p. 34 – 45.

4.3 ARTIGO 2:

**" ESTUDO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DE ÁCIDOS VOLÁTEIS
EM PRESENÇA DE PENTACLOROFENOL"**

ESTUDO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO ANAERÓBIA DE ÁCIDOS VOLÁTEIS EM PRESENÇA DE PENTACLOROFENOL

Palavras-chaves: pentaclorofenol, cinética, inibição, ácidos voláteis.

Resumo

O presente trabalho estuda isoladamente a cinética de degradação anaeróbia do ácido acético, propiônico e butírico, em sistema descontínuo, na presença de pentaclorofenol (0 mg/l e 10 mg/l de PCP). Ao longo do experimento foram acompanhadas a produção de biogás e a concentração dos diferentes ácidos orgânicos voláteis. Observou-se que, nos ensaios contendo PCP, a produção de biogás foi sempre inferior aos ensaios controles (0 mg/l de PCP). Através dos dados experimentais, verificou-se que a conversão de ácido butírico à acético, assim como do ácido acético à metano, não são etapas limitantes do processo. A baixa concentração de ácido acético proveniente da degradação do ácido butírico indica que, uma vez formado, este é prontamente convertido à metano. Os resultados mostram que a etapa limitante é a acetogênica, no que se refere à degradação do ácido propiônico. Percebeu-se que, embora o PCP praticamente não interfira na conversão global dos ácidos acético e butírico, uma menor produção de biogás é obtida nos ensaios em que o PCP esteve presente. Com exceção do ensaio contendo ácido propiônico como substrato base (além do metanol), verificou-se que a degradação dos ácidos nos diferentes ensaios se aproxima de uma cinética de primeira ordem.

4.3.1 Introdução

Devido ao potencial significativo de degradação de compostos orgânicos tóxicos, o tratamento anaeróbio de resíduos líquidos vem recentemente despertando grande interesse. Esta atenção dispensada vem resultando no desenvolvimento de várias pesquisas que visam identificar os microorganismos envolvidos nos processos de degradação, mapear as rotas de degradação utilizadas pelos microorganismos responsáveis e demonstrar o potencial de remoção de uma grande variedade de compostos xenobióticos. Entretanto, um número limitado de informações estão disponíveis no que se refere ao impacto de compostos químicos orgânicos sobre a cinética de degradação de co-substratos e na definição de fatores químicos, físicos e biológicos que influenciam a natureza e a extensão dos efeitos inibitórios (DAVIES-VENN *et al.*, 1992). Uma vez que a performance dos sistemas de tratamento biológicos é grandemente dependente da cinética de crescimento microbiana, KLECKA e MAIER (1988) relatam a importância da definição das condições operacionais para a remoção efetiva do composto tóxico durante o tratamento do efluente.

De acordo com LARSEN *et al.* (1991), numerosos são os fatores que afetam a cinética dos processos de remoção de compostos organoclorados, incluindo pH, temperatura, presença de fontes suplementares de carbono, etc. Segundo GRADY (1990), o conhecimento da cinética de um sistema biológico, onde somente um só substrato está presente, é útil; entretanto mais trabalhos devem ser realizados envolvendo as interações entre diferentes compostos orgânicos em sistemas biológicos, uma vez que os sistemas reais normalmente são multi-componentes. KLECKA e MAIER (1988) comentam que a cinética de crescimento bacteriano referente a uma mistura de compostos orgânicos pode diferir da cinética onde somente um substrato é utilizado como fonte de carbono. Segundo SPEECE (1996), quando dois ou mais substratos são utilizados para o crescimento de uma população microbiana, os microorganismos podem utilizar estes compostos simultaneamente ou, ainda, preferencialmente um e, em seguida, os demais (crescimento diauxico).

Estudos desenvolvidos por HENDRIKSEN *et al.* (1992) e WU *et al.* (1993) mostram que a adição de substratos orgânicos estimula a biodegradação de organoclorados, em particular o pentaclorofenol (PCP), um

composto com elevada toxicidade e estabilidade em sistemas naturais. O efeito positivo da adição de glicose como fonte suplementar de carbono na descloração do PCP foi avaliado por HENDRIKSEN *et al.* (1992). Foi observado que a adição de glicose como fonte extra de carbono aumentou a remoção de PCP e seus intermediários cerca de 38%. WU *et al.* (1993) estudaram a biodegradação de PCP utilizando culturas aclimatadas e não aclimatadas a esta substância tóxica e uma mistura de ácidos voláteis de cadeia curta e metanol como substrato. Segundo McCALLISTER *et al.* (1996), muito pouca informação está disponível sobre como o PCP afeta a extensão das reações que ocorrem em sistemas anaeróbios.

Neste contexto, o presente trabalho visa avaliar a cinética de degradação de ácidos voláteis de cadeia curta separadamente (ácido acético, propiônico e butírico), co-substratos importantes e estimuladores do processo de desalogenação redutiva, em sistemas anaeróbios contendo diferentes concentrações do pentaclorofenol (0 e 10 mg/l de PCP).

4.3.2 Materiais e Métodos

4.3.2.1 Inóculo

O inóculo utilizado neste trabalho foi coletado de um sistema contínuo alimentado por uma mistura de ácidos orgânicos (20 mM acético, 10 mM butírico, 20 mM láctico e 10 mM propiônico) e metanol (20 mM), sem prévia exposição ao pentaclorofenol, fornecido por MONTENEGRO.

4.3.2.2 Soluções estoque

As soluções estoque empregadas nesse experimento foram as propostas por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000): (a) meio de cultura Zinder (adaptado de ZINDER *et al.*, 1984, citado por VAZOLLER, 1995): NH_4Cl (0,5 g/l), KH_2PO_4 (0,4 g/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,1 g/l), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,05 g/l), sol. rezarzurina 0,1% (0,1 ml/l), solução traço de metais (10 ml/l); (b) solução traço de metais: NTA (4,5 g/l), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,556g/l), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0,086 g/l), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,17g/l),

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,21 g/l), H_3BO_3 (0,19 g/l), NiCl_2 (0,02 g/l) e Na_2MoO_4 (0,01 g/l); (c) solução de vitaminas (adaptado de TOUZEL e ALBAGNAC (1983, citado por VAZOLLER, 1995): biotina (0,002 g/l), ácido fólico (0,002 g/l), tiamina HCl (0,005 g/l), riboflavina (0,005 g/l), ácido nicotínico (0,005 g/l), pantotenato de cálcio (0,005 g/l), piridoxina HCl (0,010 g/l), vitamina B_{12} (0,0001 g/l) e ácido lipóico (0,005 g/l); (d) solução redutora: $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 5%; (e) solução de PCP em metanol (16 mg/l); (f) ácidos orgânicos: propiônico (1 M), butírico (1 M), láctico (2 M) e acético (2 M); (g) metanol (2 M); e (h) solução de bicarbonato 10 %.

4.3.2.3 Métodos de Medida

4.3.2.3.1 Biogás produzido

Para a medida da produção de biogás foi utilizado o sistema no qual a medida do biogás é feita pelo volume de líquido (solução de Na_2SO_4 , concentração 250 g/l) deslocado numa bureta.

4.3.2.3.2 Concentração dos ácidos voláteis

A metodologia seguida para determinação dos ácidos graxos voláteis consistiu na adaptação do método desenvolvido por MORAES (1999). Para tal, foi utilizado um cromatógrafo a gás modelo HP6890 equipado com um detector de ionização de chama e coluna Nukol. A temperatura do injetor e do detector foram 220 e 250 °C, respectivamente. A rampa de temperatura empregada na coluna foi de 80°C a 135°C numa velocidade de 4°C/min. O fluxo dos gases N_2 , H_2 e ar sintético adotado foi de 7 ml/min, 35 ml/min e 400 ml/min, respectivamente, com uma razão de *split* de 1:10.

4.3.2.3.3 Massa específica do lodo e sólidos suspensos voláteis

Para a determinação da massa específica do lodo e sólidos suspensos voláteis (SSV) foram seguidos os procedimentos descritos no Standards Methods, APHA (1995).

4.3.2.4 Procedimento experimental

O teste cinético foi desenvolvido segundo metodologia proposta por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000) para realização do ensaio de toxicidade anaeróbio e protocolo experimental desenvolvido por YOUNG & TABAK (1993).

O experimento foi estruturado variando-se a concentração do composto tóxico (0 e 10 mg/l PCP) e o substrato (acético, propiônico e butírico), totalizando seis ensaios: ensaio contendo ácido acético, metanol e 0 mg/l de PCP (0A), ensaio contendo ácido acético, metanol e 10 mg/l de PCP (10A), ensaio contendo ácido butírico, metanol e 0 mg/l de PCP (0B), ensaio contendo ácido butírico, metanol e 10 mg/l de PCP (10B), ensaio contendo ácido propiônico, metanol e 0 mg/l de PCP (0P) e ensaio contendo ácido propiônico, metanol e 10 mg/l de PCP (10P).

A concentração do metanol (15,16 mM, 0,7 g DQO/l), a DQO referente aos ácidos orgânicos voláteis (4 g DQO-AGV/l) e a relação sólidos voláteis/DQO (1g SSV/g DQO) foram mantidas constantes em todos os ensaios.

Os ensaios foram efetuados em sistema batelada, sendo o volume final dos meios nos frascos de 100 ml. A adição das diversas soluções (bicarbonato, vitaminas, fontes de carbono e meio de cultura) e do lodo aos frascos foi realizada de modo sequencial, seguido da troca de atmosfera (N₂) e da adição da solução redutora. O volume utilizado das diversas soluções estoques e do lodo estão mostrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Quantidade adicionada das soluções estoques e de lodo nos diversos ensaios.

Componentes	Volume adicionado (ml) nos diferentes ensaios					
	0A	0P	0B	10A	10P	10P
Sol. bicarbonato (10%)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
sol. redutora	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sol. vitaminas	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Sol. PCP	-	-	-	7,8	7,8	7,8
Sol. metanol	0,8	0,8	0,8	-	-	-
Sol. ácidos	3,1	3,6	2,5	3,2	3,6	2,5
Meio Zinder	69,6	69,1	70,1	62,5	62,1	63,1
lodo	23,5	23,5	23,6	23,5	23,5	23,6
TOTAL:	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

A quantidade de lodo adicionada nos frascos foi a necessária para manter uma relação de 1 g DQO/g SSV. Visando obter a concentração de metanol constante em todos os ensaios, tornou-se necessária a adição de 0,8 ml da solução de metanol nos ensaios controle (0mg/l de PCP). O volume final desejado do meio de cultura nos frascos (100 ml) foi atingido através do emprego do meio de cultura Zinder. A ordem observada para a adição das diversas soluções, bem como os cuidados seguidos, encontram-se descritos em detalhes por MONTENEGRO (1999), MONTENEGRO *et al.* (1999) e MONTENEGRO *et al.* (2000).

Uma vez realizada a adição de todas as soluções, lacrados os frascos e realizada a troca de atmosfera por nitrogênio gasoso, os frascos foram incubados a 35°C em sistema com agitação por um período de doze dias. Durante o experimento, em tempos preestabelecidos, foram realizadas medidas da produção de biogás e retiradas de amostras para determinação da concentração dos ácidos orgânicos (AGV). O volume de amostra líquida retirada ao longo do experimento foi variável.

4.3.2.5 Cálculo da inibição

A inibição dos sistemas foi definida de duas maneiras distintas.

Primeiramente, a inibição é calculada a partir da relação entre a conversão do substrato no ensaio contendo PCP com o controle (0 mg/l de PCP), conforme mostra a Equação (1):

$$I = \frac{X_0 - X_{PCP}}{X_0} \quad \text{Eq. (1)}$$

onde I é a inibição; X_0 é a fração de conversão do ensaio controle e X_{PCP} é a fração de conversão do ensaio contendo PCP.

A outra maneira empregada para a determinação da inibição é através dos valores de velocidade inicial de consumo de substrato no ensaio contendo o PCP e o controle, numa relação análoga à apresentada na Equação (1).

4.3.2.6 Determinação da cinética de degradação dos AGV

Para avaliação da degradação dos ácidos voláteis foram propostas cinéticas de ordem zero (Equação(2)), um (Equação(3)) e dois (Equação(4)):

$$r_S = -k_0 \quad \text{Eq. (2)}$$

$$r_S = -k_1 C_S \quad \text{Eq. (3)}$$

$$r_S = -k_2 C_S^2 \quad \text{Eq. (4)}$$

onde C_S é a concentração do substrato ($M.L^{-3}$); k_0 é a constante da cinética de ordem zero ($M.L^{-3}.T^{-1}$); k_1 é a constante cinética de ordem um (T^{-1}); k_2 é a constante cinética de ordem dois ($L^3.M^{-1}.T^{-1}$).

Integrando-se as Equações (2), (3) e (4) e substituindo-se os valores experimentais de concentração de substrato (C_S) e do tempo (t), determinam-se os valores dos parâmetros k_0 , k_1 e k_2 . Se o sistema exibir uma cinética de ordem zero, o gráfico da concentração do substrato contra o tempo será uma reta. Entretanto, se houver uma relação linear entre o $\ln\left(\frac{C_{S0}}{C_S}\right)$ versus t , será uma cinética de ordem um. O sistema terá uma cinética de ordem dois caso a relação entre $\left(\frac{1}{C_S} - \frac{1}{C_{S0}}\right)$ e o tempo (t) for linear.

4.3.3 Resultados e Discussão

4.3.3.1 Ensaios controles

As Figuras 1 e 2 apresentam a produção de biogás e o consumo dos ácidos acético (0A), butírico (0B) e propiônico (0P) para os ensaios controle contendo esses ácidos. Cabe ressaltar que, embora as Figuras 1 e 2

apresentem os dados experimentais somente até 100 horas de teste, o experimento se estendeu até 285 horas, contudo, sem modificações no sistema.

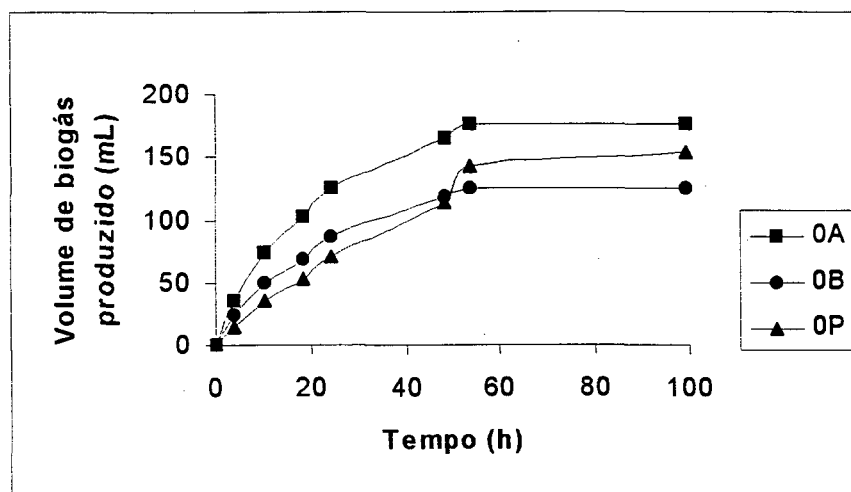


Figura 1 – Produção de biogás nos ensaios alimentados com ácido acético (0A), butírico (0B) e propiônico (0P), na ausência de PCP.

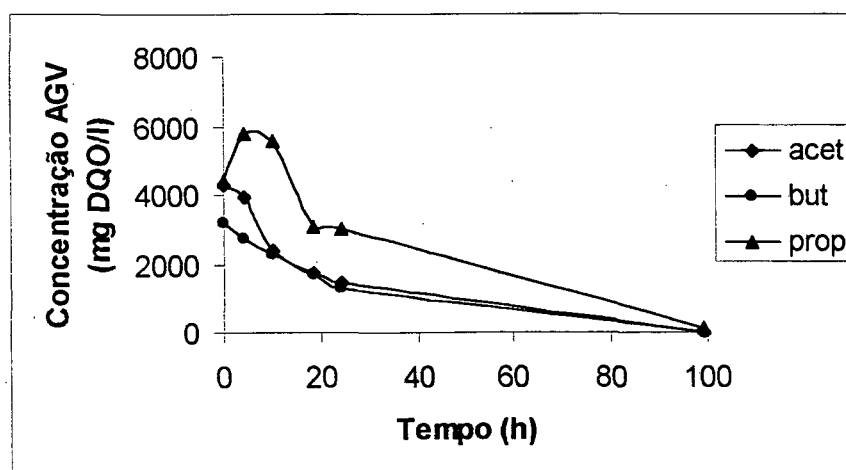


Figura 2 – Consumo do ácido acético, butírico e propiônico nos ensaios controles.

As curvas de formação do intermediário acetato não são apresentadas neste trabalho, uma vez que este esteve sempre presente em baixos níveis de concentração.

Pela análise das Figuras 1 e 2 observa-se que, tanto no que tange à produção de biogás, quanto ao consumo de ácidos, os ácidos acético e butírico descrevem de modo geral, o mesmo comportamento. A forma hiperbólica da

curva de produção de biogás verificada especialmente para o ácido acético reflete que a velocidade de consumo depende da concentração de substrato. Para o ácido propiônico, um comportamento singular é observado no período em que há produção de biogás. O volume de gás produzido descreve um comportamento quase linear (e não hiperbólico, como verificado no ensaio controle, ver ANEXO 4), revelando uma velocidade de consumo de ácido propiônico constante, independentemente de sua concentração. Tal fato mostra que os microorganismos apresentam dificuldade em metabolizar o ácido propiônico.

Enquanto, nos ensaios com ácido acético e butírico há um consumo permanente de substrato, o ensaio com ácido propiônico apresenta um período inicial de geração, seguido de degradação.

A Tabela 1 sintetiza os valores de DQO convertida, fator de conversão de substrato em biogás (ml/mg DQO), assim como o fator de conversão de substrato em biogás máximo teórico (ml/mg DQO) para os diferentes ensaios na ausência de PCP.

Tabela 1 – Produção de biogás e consumo de ácidos nos ensaios controles.

<i>Ensaio</i>	<i>OA</i>	<i>OP</i>	<i>OB</i>
DQO convertida (mg/l)	4269,7	4316,6	3165,5
Fator de conversão de substrato em biogás (ml/mg DQO)	$4,1 \cdot 10^{-2}$	$3,6 \cdot 10^{-2}$	$4,0 \cdot 10^{-2}$
Fator de conversão de substrato em biogás máximo teórico (ml/mg DQO)	$6,4 \cdot 10^{-2}$	$6,4 \cdot 10^{-2}$	$6,4 \cdot 10^{-2}$

Como pode-se constatar na Tabela 1, há uma diferença de até 44, 45 % entre a quantidade de biogás teórico formado pela degradação do substrato e o biogás medido.

4.3.3.2 Ensaio contendo PCP

As Figuras 3 e 4 apresentam as curvas de produção de biogás e consumo dos ácidos para os ensaios contendo PCP.

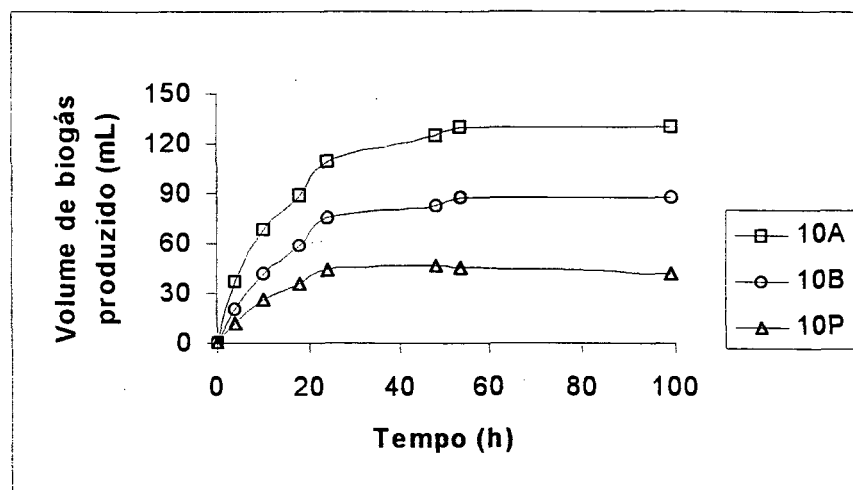


Figura 3 – Volume de biogás produzido para os diferentes ensaios contendo 10 mg/l de PCP e ácidos acético (10A), butírico (10B) e propiônico (10P).

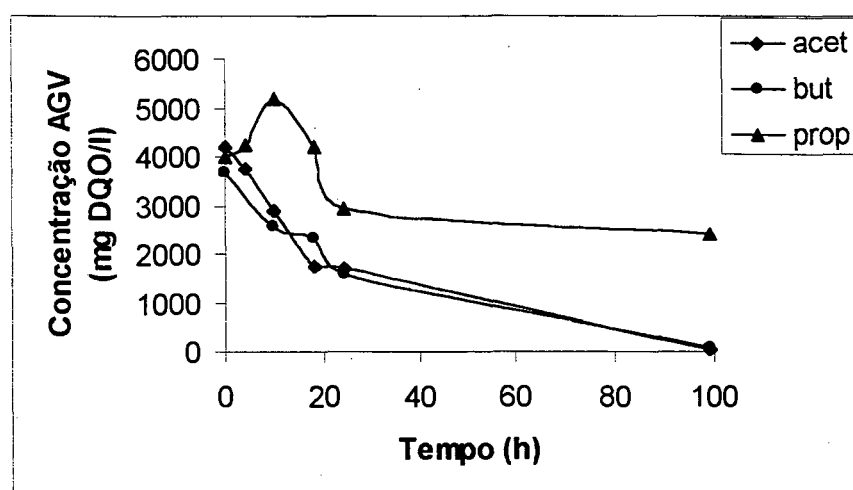


Figura 4 – Consumo de ácidos para os diferentes ensaios contendo 10 mg/l de PCP e ácidos acético (10A), butírico (10B) e propiônico (10P).

Pela análise da Figura 3, constata-se que as curvas de produção de biogás dos ensaios contendo ácido acético e butírico como substratos base,

além do metanol, e 10 mg/l de PCP, possuem formas hiperbólicas. Tal característica das curvas indica uma dependência da velocidade de consumo com relação à concentração de substrato. No caso do ensaio alimentado com ácido propiônico (10P), percebeu-se que o comportamento linear constatado na ausência de PCP não é reproduzido na presença de PCP (ver ANEXO 4), sugerindo que o PCP aumenta o valor do K_s do sistema a ponto da concentração de substrato exibir um papel importante.

Comparando-se a produção de biogás nos ensaios controles contendo ácido acético e butírico com os ensaios contendo 10 mg/l de PCP, observa-se que há maior produção de biogás na ausência do composto tóxico, ainda que a o consumo de substrato seja semelhante. Essa diferença no fator de conversão dos substratos em metano deve ser atribuída à formação de intermediários que não os acompanhados (acético, propiônico e butírico) durante o experimento, sugerindo, ainda, que esse intermediário possa ser o ácido propiônico e reforçando a hipótese que se possa ter geração de propionato a partir de acetato.

Analogamente aos resultados obtidos para os ensaios controles, a degradação dos substratos nos ensaios contendo acético e butírico e 10 mg/l de PCP (Figura 4), o consumo é praticamente total. Para o ácido propiônico, contudo, a adição de 10 mg/l de PCP provoca uma redução em sua conversão de 0,98 para 0,40.

A Tabela 2 resume os valores de DQO convertida, fator de conversão de substrato em biogás e fator de conversão de substrato em biogás máximo teórico para os diferentes ensaios contendo PCP.

Tabela 2 – DQO convertida, biogás medido e biogás teórico produzido para os diferentes ensaios contendo PCP

<i>Ensaio</i>	<i>10A</i>	<i>10P</i>	<i>10B</i>
DQO convertida (99 h) (mg/l)	4191,58	1806,08	3612,42
Fator de conversão de substrato em biogás (ml/mg DQO)	$3,09 \cdot 10^{-2}$	$2,51 \cdot 10^{-2}$	$2,42 \cdot 10^{-2}$
Fator de conversão de substrato em biogás máximo teórico (ml/mg DQO)	$6,43 \cdot 10^{-2}$	$6,43 \cdot 10^{-2}$	$6,43 \cdot 10^{-2}$

Novamente, a diferença entre a quantidade de biogás medido e o biogás calculado teoricamente é expressiva e ainda superior ao erro calculado para o ensaio controle.

Através dos dados experimentais, verificou-se que a conversão de ácido butírico à acético, assim como do ácido acético à metano, não são as etapas limitantes do processo. A baixa concentração de acético proveniente da degradação do ácido butírico indica que, uma vez formado, este é prontamente convertido. Os resultados mostram que a etapa limitante é a acetogênica, no que se refere à degradação do ácido propiônico.

4.3.3.3 Comparação entre os ensaios controles e ensaios com PCP

A Tabela 3 mostra os valores calculados para a fração de conversão dos ácidos (intervalo de tempo considerado: 0 - 99 h) nos diferentes ensaios.

Tabela 3 – Efeito do PCP sobre a conversão dos ácidos.

<i>Concentração PCP</i> (mg/l)	<i>Conversão dos diferentes ácidos</i>		
	Acético	Butírico	Propiônico
0	0,996	0,994	0,979
10	0,994	0,978	0,399

Como pode ser observado na Tabela 3, o PCP praticamente não altera a conversão dos ácidos acético e butírico, contudo o mesmo não se passa com o ácido propiônico, já que este teve sua degradação grandemente influenciada pela presença de PCP.

Comparando-se os valores obtidos para o fator de conversão de substrato em biogás para os ensaios controles (Tabela 1) e os ensaios contendo PCP (Tabela 2), observa-se que estes apresentam uma diferença razoável com relação ao fator de conversão de substrato em biogás máximo teórico. Observa-se ainda que essa diferença é acentuada na presença de PCP.

Um fato a ser notado é que, embora o PCP praticamente não interfira na conversão global dos ácidos acético e butírico, supõe-se que nem todo o substrato degradado tenha sido convertido a biogás, já que uma menor produção de biogás foi verificada nos ensaios em que o PCP esteve presente. Os resultados sugerem que uma parcela do substrato tenha sido convertido a outros intermediários que não os acompanhados (acético, propiônico e butírico).

A geração observada de ácido propiônico nas primeiras horas de experimento, embora seja uma constatação rara, não é uma constatação nova. Em um sistema alimentado com etanol como substrato base, YOUNG e TABAK (1993) discutem que a geração de ácido propiônico na presença de PCP é devida a metabólitos intermediários das células, pois os autores não admitem que hajam precursores do ácido propiônico em solução. Entretanto, cabe lembrar que, de acordo com HIRATA (1997), ácido propiônico pode ser formado a partir do acetato pela ação de microrganismos.

A Tabela 4 mostra os valores calculados para a inibição causada pelo PCP nos diferentes ensaios.

Tabela 4 – Efeito do PCP sobre a degradação de ácidos.

Concentração de PCP (mg/l)	Inibição, %					
	C _s = Ác. Acético		C _s = Ác. Butírico		C _s = Ác. Propiônico	
0	I _x	I _y	I _x	I _y	I _x	I _y
10	0,2	6	1,6	4	59,2	73,0

Onde I_x é a inibição calculada a partir da fração de conversão do substrato e I_v é a inibição calculada pelo método das velocidades iniciais de consumos do substrato.

Analisando-se a Tabela 4 verifica-se que, independentemente do método escolhido, pode-se dizer que o efeito inibitório do PCP sobre a degradação do ácido acético e do ácido butírico é praticamente o mesmo, sendo 0,2 % (método baseado na conversão de substrato) e 6 % (método baseado nas velocidades iniciais). Com relação ao ácido propiônico, os métodos empregados fornecem resultados semelhantes e expressivos para a inibição, sendo 59 e 73 %, respectivamente.

4.3.3.4 Cinética de degradação dos AGV

Através da aplicação dos modelos cinéticos de ordem zero, um e dois, verificou-se que, nos ensaios com 0 e 10 mg/l de PCP, a degradação dos ácidos acético e butírico nas primeiras 24 horas de experimento, tendem a uma cinética de primeira ordem. Observa-se que tanto as cinéticas de ordem zero e dois são inadequadas para representar o processo. Com relação à cinética de degradação do ácido propiônico, verificou-se que, além do termo de consumo, há necessidade de se incorporar uma parcela de geração na equação cinética. Através das equações propostas neste trabalho, não é possível modelar a velocidade de desaparecimento deste ácido.

Os valores otimizados das constantes cinéticas para os ajustes de primeira ordem nos ensaios contendo ácido acético e butírico estão mostrados na Tabela 5.

Tabela 5 – Valores otimizados para a constante cinética de primeira ordem (k_1).

Concentração PCP (mg/l)	Constante cinética, k_1 (h^{-1})	
	Ácido Acético	Ácido Butírico
0	0,048	0,037
10	0,051	0,038

Pela análise da Tabela 5, constata-se que o valor encontrado para a constante cinética das reações nos ensaios controles contendo ácido acético e ácido butírico é praticamente igual aos obtidos para os ensaios contendo 10 mg/l de PCP (ver ANEXO 5).

4.3.4 Conclusões

Nas condições ambientais avaliadas, concluiu-se que o PCP inibe principalmente as bactérias acetogênicas degradadoras de ácido propiônico, uma vez que estas foram muito mais sensíveis à presença do inibidor que as bactérias degradadoras de ácido butírico e acético.

Nos ensaios controles (0 mg/l PCP), a produção de biogás praticamente cessou após 53 horas de experimento, ao passo que, nos ensaios em que o PCP estava presente (10 mg/l de PCP), a produção se estendeu, no máximo, até 48 horas. Esta evidência sugere que o inibidor necessita de um certo tempo para atuar. Notou-se também que, nos ensaios controles, a quantidade de biogás medido foi superior aos ensaios que continham o composto tóxico, ainda que a conversão de substrato tenha sido semelhante (com exceção do ensaio com ácido propiônico). Desta forma, supôs-se que uma parcela do substrato tenha sido convertido a outros intermediários que não os acompanhados (acético, propiônico e butírico).

Dentre os modelos testados, verificou-se que, para os ácidos acético e butírico, a cinética de primeira ordem é a que melhor se ajusta aos dados experimentais. Nenhum dos modelos testados foi adequado para representar o ácido propiônico, já que este apresentou um período de geração seguido de degradação.

4.3.5 Referências Bibliográficas

APHA (STANDARD METHODS for the examination of water and wastewater. (1995). 19th edition. Publication Office American Public Health Association, Washington: APHA / AWWA / WEF).

- DAVIES-VENN, C., YOUNG, J. C., TABAK, H. H. (1992). Impact of Chlorophenols and Chloroanilines on the Kinetics of Acetoclastic Methanogenesis. *Environ. Sci. Technol.*, v. 26, n.8, p. 1627 – 1635.
- GRADY, L. Jr. (1990). Biodegradation of Toxic Organics: Status and Potential. *Journal of Environmental Engineering*, v. 116, n. 5, p. 805 - 828.
- HIRATA, Y. S. (1997). Características e Interações microbianas nos processos de tratamento biológico aeróbio e anaeróbio. In: III CURSO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS., Florianópolis. Curso. Santa Catarina, CBAB, MCT/CNPq, CPGEQ/UFSC, CDB, p. 1.
- HENDRIKSEN, H. V., LARSE, S., AHRING, B. (1992). Influence of a Supplemental Carbon Source on Anaerobic Dechlorination of Pentachlorophenol in Granular Sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 1, p. 365-370.
- KLECKA, G. M., MAIER, W. J. (1988). Kinetics of Microbial Growth on Mixture of Pentachlorophenol and Chlorinated Aromatic Compounds. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 31, p. 328 – 335.
- LARSEN, S., HENDRIKSEN, H. V., AHRING, B. K. (1991). Potential for Thermophilic (50°C) Anaerobic Dechlorination of Pentachlorophenol in Different Ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 57, n. 7, p. 2085 – 2090.
- MCALISTER, K.A., LEE, H. and TREVORS, J.T. (1996). Microbial degradation of pentachlorophenol, *Biodegradation*, v. 7, p. 1-40.
- MONTENEGRO, M. A. P. (1999). Estudo da dinâmica de populações de microorganismos anaeróbios envolvidos na degradação de PCP em Reator Híbrido. São Carlos. 84 p. (Qualificação de doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo.
- MONTENEGRO, M. A. P., VAZ, D. A., VAZOLLER, R. F, FURIGO Jr., A., SOARES, H. M. (1999). Efeito do PCP sobre a comunidade microbiana anaeróbia proveniente de um reator híbrido. II ENPROMER – Encontro de Engenharia de processo do Mercosul. Florianópolis, SC.
- MONTENEGRO, M. A. P., VAZ, D. A., VAZOLLER, R. F, FURIGO Jr., A., SOARES, H. M. (2000). Effect of PCP on an Anaerobic Microbial Community Originated from a Hybrid Reactor. Artigo em fase de preparação.
- MORAES, E. M. (1999). Determinação de ácidos voláteis em amostras de reatores anaeróbios por cromatografia gasosa. Manuais do LPB, Escola de Engenharia de São Carlos, USP.
- SPEECE (1996). *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*. Archae Press, 394 p.

- VAZOLLER, R. F.(1995). Avaliação do ecossistema microbiano de um biodigestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas. São Carlos. 259 p. (Tese de doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo.
- WU, W, BHATNAGAR, L., ZEIKUS, G. (1993). Performance of Anaerobic Granules for Degradation of Pentachlorophenol. Applied and Environmental Microbiology, v. 59, n. 2, p. 389 –397.
- YOUNG, J. C., TABAK, H. H. (1993). Multilevel protocol for assessing the fate and effect of toxic organic chemicals in anaerobic treatment processes. Water Environment Research, v. 65, n. 5, p. 34 – 45.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Com relação às análises preliminares, baseados em dados experimentais obtidos por MONTENEGRO *et al.* (1999), conclui-se que:

(a) para uma concentração de sólidos voláteis de 3,2 g/l e uma DQO inicial teórica de 6,88 g/l, somente os ensaios contendo concentração de PCP entre 6 – 10 mg/l foram inibidos. Esta inibição foi constatada tanto na produção de biogás, quanto na remoção de DQO. A maior inibição foi verificada para o ensaio contendo 10 mg/l de PCP, cerca de 46 %, pelo método de OWEN *et al.* (1978) e 5% pelo método tradicional. Para os ensaios com 2 mg/l de PCP foi observado um pequeno estímulo ao processo de degradação (aproximadamente 18%, pelo método proposto por OWEN *et al.* (1978) e 2% pelo método tradicional). A concentração de 4 mg/l de PCP mostrou ser aquela que encontra-se no limite entre o estímulo e a inibição do sistema;

(b) dentre as formas utilizadas para representar a inibição, verificou-se que a forma clássica e a de OWEN *et al.* (1978) geram resultados próximos, sendo ambas adequadas para representar o fenômeno. A forma proposta por JIN e BHATTACHARYA somente apresentou resultados satisfatórios para descrever a inibição ao final do experimento, uma vez que esta atingiu valores próximos à 100%;

(c) no que tange ao estudo cinético realizado, concluiu-se que nenhuma das funções avaliadas representaram adequadamente o sistema, de modo que não se pode determinar com clareza o tipo de inibição que o PCP causa sobre o sistema.

Com relação aos ensaios de degradação de uma mistura de ácidos e metanol na presença de concentrações diferenciadas de PCP (0, 5 e 10 mg/l), conclui-se que:

(a) as bactérias degradadoras de ácido propiônico são as únicas que sofrem uma influência considerável do PCP, sendo esse efeito uma função da concentração do inibidor do meio;

(b) verificou-se que, no ensaio controle, mesmo os microorganismos estando aclimatados ao substrato, o ácido propiônico somente foi degradado após 8 horas de experimento, indicando a existência de uma fase *lag*. Observa-se que, para 5 mg/l de PCP, o ácido propiônico não é degradado, ao passo que os ácidos acético e butírico atingem a mesma conversão obtida no ensaio controle, para um intervalo de tempo um pouco maior. Para 10 mg/l de PCP, uma produção de ácido propiônico é constatada e, novamente, a degradação dos ácidos acético e butírico praticamente não é afetada;

(c) de uma forma geral constata-se que a inibição dos sistemas aumenta com o aumento da concentração do PCP no meio. Tanto para os ensaios contendo 5 mg/l de PCP, quanto 10 mg/l de PCP, a degradação do ácido propiônico foi praticamente nula (100 % de inibição). No que se refere aos demais ácidos, um pequeno aumento na inibição é observado;

(d) a degradação dos diferentes ácidos voláteis na presença de concentrações variadas de inibidor (0, 5 e 10 mg/l de PCP) é convenientemente representada por uma cinética de primeira ordem com relação à concentração do ácido total, cuja constante é função da concentração do inibidor. Tanto o modelo de Michaelis-Menten, quanto as cinéticas de ordens zero e dois, foram inadequados para descrever os resultados experimentais.

Com relação ao ensaio cinético efetuado com diferentes ácidos orgânicos e metanol como substrato e concentrações de 0 e 10 mg/l de PCP concluiu-se que:

(a) nas condições ambientais testadas, o PCP inibe principalmente as bactérias acetogênicas degradadoras de ácido propiônico, uma vez que estas foram muito mais sensíveis à presença do inibidor que as bactérias degradadoras de ácido butírico e acético. A inibição constatada na degradação

do ácido propiônico é bem mais expressiva que a inibição verificada nos demais ácidos; entretanto, para todas as bactérias foi verificado algum nível de inibição;

(b) concluiu-se que o inibidor PCP necessita de um certo tempo para atuar, uma vez que a velocidade de produção de gás e consumo de substrato não é alterada nas primeiras 48 horas do experimento. Notou-se que os ensaios controles a quantidade de biogás medido foi superior aos ensaios que continham o composto tóxico, ainda que a conversão de substrato tenha sido semelhante (com exceção do ensaio com ácido propiônico). Assim, supôs-se que uma parcela do substrato tenha sido convertido a outros intermediários que não os acompanhados (acético, propiônico e butírico);

(c) tomando-se como referência a produção de biogás teórico, verificou-se que nos ensaios em que o PCP estava presente, a diferença constatada na produção de biogás medida foi sempre maior que a verificada nos ensaios controles. Como a conversão no ensaio contendo PCP e controle foi praticamente a mesma (com exceção do ensaio contendo ácido propiônico), este fato sugere que parte do substrato foi utilizado na geração de intermediários não quantificados, além da produção de biogás. Daí a necessidade de realização de outros testes experimentais;

(d) verificou-se que a degradação dos ácidos acético e butírico tende a uma cinética de primeira ordem, cuja constante cinética é pouco afetada pela presença de PCP. O ácido propiônico não é representado adequadamente por cinéticas de ordens zero, um e dois, uma vez que apresenta um período de geração seguido de degradação;

(e) a geração constada de ácido propiônico pode ser atribuída a metabólitos intermediários das células (conforme observado por YOUNG e TABAK, 1993), em um caso semelhante, ou conforme relata HIRATA (1997), à ação de microorganismos geradores de ácido propiônico a partir do acetato.

Como sugestões para trabalhos futuros envolvendo a degradação anaeróbia do PCP, propõe-se:

(a) avaliar a cinética de biodegradação do pentaclorofenol, assim como do ácido láctico, metanol, e relacionar a influência dos co-substratos na degradação do tóxico;

(b) efetuar um planejamento experimental variando a quantidade de lodo nos frascos, quantidade/composição dos substratos e pentaclorofenol de modo a formular um modelo cinético completo;

(c) desenvolver estudos comparando a cinética de degradação do PCP utilizando um lodo sem prévia exposição ao PCP e outro já aclimatado;

(d) levantar as isotermas de adsorção e dessorção do PCP em grãos ativos e inativos, pois segundo trabalho desenvolvido por WU *et al.* (1993), uma quantidade significativa de PCP é adsorvida irreversivelmente pela biomassa, e verificar a contribuição do processo de adsorção na remoção do tóxico;

(e) desenvolver mais testes envolvendo o ácido propiônico de modo a melhor compreender sua cinética de degradação na presença do PCP.

(f) uma vez conhecida a cinética das reações, realizar testes hidrodinâmicos com um sistema contínuo de modo a propôr um modelo para sistema envolvendo tanto os aspectos cinéticos (com ou sem a aclimação dos microorganismos), quanto os hidrodinâmicos;

(g) estudar o processo de aclimação sofrido pelos microorganismos na presença de tóxicos, e se possível, estabelecer um modelo;

(h) desenvolver um modelo completo do reator anaeróbio de fluxo ascendente, visando a simulação de degradação do PCP com o passar do tempo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M. (1994). Biodegradation and Bioremediation. Academic Press, Inc., USA., 302. p.
- ANDRADE, M. A. N. (1995) Procedimentos para simulação física de reatores anaeróbios de Escoamento Ascendente e Manta de Lodo (UASB), visando o estudo de seu comportamento hidrodinâmico. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, USP.
- ANDREWS, G. F. (1984). Parameter Estimation from Batch Culture Data. Biotechnology and Bioengineering, v. 26, n. 7, p. 824 – 825.
- APHA (STANDARD METHODS for the examination of water and wastewater. (1995). 19th edition. Publication Office American Public Health Association, Washington: APHA / AWWA / WEF).
- BOLLE, W. L., VAN BREUGEL, J., VAN EYBERGEN, G. C., KOSSEN, N. W. F., Zoetemeyer, R. J. (1986). Modelling the liquid-flow in up-flow anaerobic sludge blanket reactors. Biotechnology and Bioengineering, v. 28, n. 11, p. 1615 – 1620.
- CAMPOS, J. R. (1994) Biomassa Fixa: Reatores Anaeróbios. In: Taller y Seminario Latinoamericano Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales, Montevideo. Proceedings...Montevideo: Graphis Ltda. Juan C. Gomez, p. 169 –183.
- CARMO, G. N. R. Jr. (1998). Aplicabilidade do Reator Anaeróbio de Fluxo Ascendente com manta de Lodo (UASB) para o Tratamento de Resíduos Líquidos da Suinocultura. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Federal de Santa Catarina.
- COUNOTTE, G. H. M., PRINS, R. A. (1979). Calculation of K_m and V_{max} from Substrate Concentration Versus Time Plot. Applied and Environmental Microbiology, v. 38, n. 4, p. 758 – 760.
- CRAVEIRO, A. M. (1994). Desempenho e Estudos Cinéticos de Biodigestores Híbridos com Diferentes Porcentagens de Enchimento. Tese (Doutorado) –

Departamento de Engenharia Química da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

DAVIES-VENN, C., YOUNG, J. C., TABAK, H. H. (1992). Impact of Chlorophenols and Chloroanilines on the Kinetics of Acetoclastic Methanogenesis. *Environ. Sci. Technol.*, v. 26, n.8, p. 1627 – 1635.

EASTMAN, J.A., FERGUSON, J.F. (1981). Solubilization of particulate organic carbon during the acid phase of anaerobic digestion. *Journal WPCF*, v. 53, n. 3, p. 352 –366.

FLORENCIO, L. (1994). The fate of Methanol in Anaerobic Bioreactors. Ph.D Thesis – Wageningen Agricultural University. Wageningen, The Netherlands. 136 p.

FLORENCIO, L., FIELD, J. A., LETTINGA, G. (1994). Methanol Degradation in Anaerobic Bioreactors. In: III Taller y Seminario Latinoamericano Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales, v. 3, Montevideo. Proceedings... Montevideo: Graphis Ltda. Juan C. Gomez, p. 35 –38.

FLORENCIO, L., FIELD, J. A., VAN LANGERAK, A., LETTINGA, G. (1996). pH-Stability in Anaerobic Bioeractors Treating Methanolic Wastewaters. *Wat. Sci. Tech.*, v. 33, n. 3, p. 177 – 184.

FORESTI, E. (1994). Fundamentos do processo de digestão anaeróbia. Tratamiento Anaeróbio. In: Taller y Seminario Latinoamericano Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales, Montevideo. Proceedings...Montevideo: Graphis Ltda. Juan C. Gomez, 1994, p.97 - 110.

FORESTI, E. (1997) Sistemas de Tratamiento Anaeróbio. In: III CURSO DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS, Florianópolis. Curso. Santa Catarina, CBAB, MCT/CNPq, CPGEQ/UFSC, CDB.

FURIGO, A. Jr. (1999). Cinética dos Processos Biológicos de Tratamento de Resíduos. In: IV CURSO DE TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS., Florianópolis. Curso. Santa Catarina, CBAB, MCT/CNPq, ALFA, FURB, CPGENQ/UFSC.

GIBSON, A. S., SUFLITA, J. M. (1990). Anaerobic Biodegradation of 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid in Samples from a Methanogenic Aquifer: Stimulation by Short-Chain Organic Acids and Alcohols. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 6, p. 1825-1832.

GRADY, L. Jr. (1990). Biodegradation of Toxic Organics: Status and Potential. *Journal of Environmental Engineering*, v. 116, n. 5, p. 805 - 828.

HAYES, T. D., ISAACSON, H. R., PFEFFER, J. T., LIU, Y. M. (1990). In Situ Methane Enrichment in Anaerobic Digestion. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 35, n. 1, pp. 73 – 89.

- HENDRIKSEN, H. V., LARSEN, S., AHRING, B. (1992). Influence of a Supplemental Carbon Source on Anaerobic Dechlorination of Pentachlorophenol in Granular Sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 1, p. 365-370.
- HENZE, M., HARREMÖES, P. (1983). Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors – A literature review. *Wat. Sci. Tech.*, v 15, n. 1, p. 1 –101.
- HIRATA, Y. S. (1997). Características e Interações microbianas nos processos de tratamento biológico aeróbio e anaeróbio. In: III CURSO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS., Florianópolis. Curso. Santa Catarina, CBAB, MCT/CNPq, CPGEQ/UFSC, CDB, p. 1.
- JARREL, K. F., KALMOKOFF, M. L. (1988). Nutritional requirements of the methanogenic archaeobacteria. *Can. J. Microbiology*, v. 34, p. 557 – 576.
- JIN, P., BHATTACHARYA, S. K. (1996). Anaerobic Removal of Pentachlorophenol in Presence of Zinc. *Journal of Environmental Engineering*, v. 122, n.7, p. 590 – 598.
- JOHNSON, L. D., YOUNG, J. C. (1983). Inhibition of anaerobic digestion by organic priority pollutants. *Journal WPCF*, v. 55, n. 12, p. 1441 – 1449.
- JORDÃO, E. P. e PESSOA, C. A. (1995). Tratamento de esgotos domésticos. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental – ABES – Rio de Janeiro.
- KIM, S., YOUNG, J. C., TABAK, H. H. (1994). Kinetics of acetogenesis and methanogenesis in anaerobic reactions under toxic conditions. *Water Environment Research*, v. 66, n. 2, p. 119 – 132.
- KLECKA, G. M., MAIER, W. J. (1988). Kinetics of Microbial Growth on Mixture of Pentachlorophenol and Chlorinated Aromatic Compounds. *Biotechnology and Bioengineering*, v. 31, n. 4, p. 328 – 335.
- LAMOTTA, E.J., SHIEH, W.K. (1979). Diffusion and Reaction in Biological Nitrification. *Journal of the Environmental Engineering Division ASCE*, v.105, n. EE4, p. 655-673.
- LARSEN, S., HENDRIKSEN, H. V., AHRING, B. K. (1991). Potential for Thermophilic (50°C) Anaerobic Dechlorination of Pentachlorophenol in Different Ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 57, n. 7, p. 2085 – 2090.
- LEMA, J. M., MÉNDEZ, R., IZA, J., GARCÍA, P., FERNANDEZ-POLANCO, F. (1991). Chemical reactor engineering concepts in design and operation of anaerobic treatment processes, *Water Science and Technology*, v. 24, n. 8, p. 79-86.

- LEMA, J. M., MÉNDEZ, R., SOTO, M.(1992). Bases cinéticas y microbiológicas en el diseño de digestores anaeróbios. *Ingeniería química*, v. 274, n. 24, p. 191-201.
- LEVENSPIEL, O. (1974). *Engenharia das reações químicas*. v. 1, São Paulo. Edgard Blücher.
- LJUNGDAHL (1986). The autotrophic pathway of the acetate synthesis in acetogenic bacteria. *Ann. Ver. Microbiol.*, v. 40, p. 415 – 450.
- MADSEN, T., AAMAND, J. (1991). Anaerobic Transformation and Toxicity of Trichlorophenols in a Stable Enrichment Culture. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 2, p.557 – 561.
- METCALF e EDDY (1991). *Wastewater engineering treatment disposal reuse*,. 3.ed. New York: McGraw-Hill. 1334p.
- MIKESELL, M. D., BOYD, S. A. (1986). Complete Reductive Dechlorination and Mineralization of Pentachlorophenol by Anaerobic Microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 52, n. 4, p. 861 – 865.
- MOHN, W. W., TIEDJE, J. M. (1992). Microbial Reductive Dehalogenation. *Microbiological Reviews*, v. 56, n.3, p. 482 – 507.
- MONTENEGRO, M. A. P. (1999). Estudo da dinâmica de populações de microorganismos anaeróbios envolvidos na degradação de PCP em Reator Híbrido. São Carlos. 84 p. (Qualificação de doutorado) Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo.
- MONTENEGRO, M. A. P., VAZ, D. A., VAZOLLER, R. F, FURIGO Jr., A., SOARES, H. M. (1999). Efeito do PCP sobre a comunidade microbiana anaeróbia proveniente de um reator híbrido. II ENPROMER – Encontro de Engenharia de processo do Mercosul. Florianópolis, SC.
- MONTENEGRO, M. A. P., VAZ, D. A., VAZOLLER, R. F, FURIGO Jr., A., SOARES, H. M. (2000). Effect of PCP on an Anaerobic Microbial Community Originated from a Hybrid Reactor. Artigo em fase de preparação.
- MORAES, E. M. (1999). Determinação de ácidos voláteis em amostras de reatores anaeróbios por cromatografia gasosa. *Manuais do LPB*, Escola de Engenharia de São Carlos, USP.
- MOSER, A (1988). *Bioprocess Technology. Kinetics and Reactors*. Springer – Verlag New York Inc., 450 p.
- NAGAI, S., NISHIO, N. (1989). Biological aspects of anaerobic digestion. *Handbook of heat and mass transfer. Catalysis, kinetics, and reactor engineering*. Nicholas P. Cheremisinoff, editor. Gulf Publishing Company, Houston. Cap. 18, vol. 3, p. 702.

- NASCIMENTO, R. A. (1996). Desempenho de Reator Anaeróbio de Manta de Lodo Utilizando Efluentes Líquidos de Indústria Alimentícia. Campinas. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Engenharia Civil, Universidade Estadual de Campinas.
- NICHOLSON, D. K., WOODS, S. L., ISTOK, J. D., PEEK, D. C. (1992). Reductive Dechlorination of Chlorophenols by a Pentachlorophenol-Acclimated Methanogenic Consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n.7, p. 2280-2286.
- NIES, L., VOGEL, T. M. (1990). Effects of Organic Substrates on Dechlorination of Arocolor 1242 in Anaerobic Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 56, n. 9, p. 2612 – 2617.
- OLIVEIRA, P. A. V. (de coord.) et al. (1993). Manual do manejo e utilização dos dejetos de suínos. Concórdia: EMBRAPA-CNPSA, 188p.
- OWEN, W. F., STUCKEY, D. C., HEALY, J. B., YOUNG, L. Y., MCCARTY, P. L. (1978). Biossay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity, *Water Research*, v. 13, p. 485-492.
- PARKIN, G. F., SPEECE, R. E. (1982). Modeling Toxicity in Methane Fermentation Systems. *Journal of the Environmental Engineering Division, Proceedings of the American Society of Civil Engineers, ASCE*, v. 108, n. EE3, p. 515 – 531.
- PAVLOSTATHIS, S.G, GIRALDO-GOMEZ, E. (1991). Kinetics of anaerobic treatment. *Wat. Sci. Tech.* v. 24, n. 8, p. 35-59.
- PELCZAR, M., REID, R., CHAN, E.C.S. (1980). *Microbiologia*. São Paulo: McGraw-Hill. 566p.
- REUSS, M., *et al.* (1980) 6th International Fermentation Symposium, London, Ontario.
- ROBISON e TIEDJE (1983), Nonlinear Estimation of Monod Growth Kinetic Parameters from a Single Substrate Depletion Curve. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 45, n. 5, p.1453 – 1458.
- SOTO, M, M, MÉNDEZ, R., LEMA, J. M. (1992). Determinación de toxicidad y biodegradabilidad anaerobia de aguas residuales. 1992., n. 22., p. 70 - 81.
- SPEECE (1996) *Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewaters*. Archae Press, 394 p.
- SPEECE, R. E. (1983). Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.*, v. 17, n. 9, p. 416A – 427A.

- TOUZEL, J. P., ALBAGNAC, G. (1983). Isolation and characterization of *Methanococcus mazei* strain MC3. *FEMS Microbiology Letters*, v. 16, p. 241 – 245.
- VAN HAANDEL, A., LETTINGA, G. (1994). Tratamento anaeróbio de esgotos. Um manual para regiões de clima quente. Universidade Federal da Paraíba, Campina Grande, Paraíba/Universidade Agrícola de Wageningen, Holanda. 125p.
- VARGAS, C., AHLERT, R. C. (1987). Anaerobic degradation of chlorinated solvents. *Journal WPCF*, v. 59, n. 11, p. 964 – 968.
- VAZOLLER, R. F. (1995). Avaliação do ecossistema microbiano de um biogestor anaeróbio de fluxo ascendente e manta de lodo, operado com vinhaça sob condições termofílicas. São Carlos. 259 p. Tese (Doutorado) - Departamento de Hidráulica e Saneamento da Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo.
- VAZOLLER, R. F. (1999). Microbiologia de Processos Biológicos de Tratamento. In: IV CURSO DE TRATAMENTO BIOLÓGICO DE RESÍDUOS., Florianópolis. Curso. Santa Catarina, CBAB, MCT/CNPq, ALFA, FURB, CPGEQ/UFSC. p. 16.
- VIÑAS, M. (1994). Critérios de diseño y escalado de reactores anaerobios. In: III Taller y Seminario Latinoamericano Tratamiento Anaerobio de Aguas Residuales, 3, 1994, Montevideo. Proceedings...Montevideo: Graphis Ltda. Juan C. Gomez, 1994, p.111-123.
- ZEHNDER, A. J. B.(1988). *Biology of anaerobic microorganisms*. J. Wiley e Sons, EUA. 872p., 1988.
- ZEHNDER, A. J. B., INGVORSEN, K., MARTI, T. *Microbiology of methane bacteria*. In: International Symposium on Anaerobic Digestion, 2, 1981, Travemünde. Proceedings... Amsterdam: Elsevier Biomedical Press B. V., p.45-65, 1982.
- ZINDER, S. H., CARDWELL, S. C., ANGUISH, T. LEE, M. and KOCH, M. (1984). Methanogenesis in thermophilic (58°C) anaerobic digester: *methanothrix* sp. as an important acetoclastic methanogen. *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 47, p. 796-807.
- WOODS, S. L., FERGUSON, J. F., BENJAMIN, M. M. (1989). Characterization of Chlorophenol and Chloromethoxybenzene Biodegradation during Anaerobic Treatment. *Environ. Sci. Technol.*, v. 23, n. 1, p. 62 – 67.
- WU, M. M., HICKEY, R. F. (1997). Dynamic Model for UASB Reactor Including Reactor Hydraulics, Reaction, and Diffusion. *Journal of Environmental Engineering*, v.123, n. 3, p. 244 – 252.

WU, W. M., BHATNAGAR, L., ZEIKUS, J. G. (1993). Applied and Environmental Microbiology, v. 59, n. 2, p. 389 – 397.

YOUNG, J. C., TABAK, H. H. (1993). Multilevel protocol for assessing the fate and effect of toxic organic chemicals in anaerobic treatment processes. Water Environment Research, v. 65, n. 5, p. 34 – 45.

ANEXOS

ANEXO 1:**Fator de correção do biogás medido para o valor real**

Para a corrigir o valor lido de biogás no sistema de medida, efetuou-se um ensaio em que injetava-se ao sistema um volume de ar conhecido e lia-se o volume deslocado de líquido na bureta. Esse procedimento foi realizado com diferentes volumes e uma curva de calibração foi estabelecida. Verificou-se uma relação linear ($R^2 = 0,9995$) entre o volume real injetado ao sistema e o valor medido, dado pela equação A1.

$$\text{Volume}_{\text{real}} = 1,1739 * \text{Volume}_{\text{medido}} \quad \text{Eq. (A1)}$$

Para o caso dos testes em que há variação do volume de líquido, um fator adicional de correção deve ser levado em conta: o volume de amostra líquida retirada deve ser somado à produção de biogás no tempo seguinte.

ANEXO 2:

Obtenção da Equação (44) para o cálculo teórico da produção de biogás

Para a obtenção da Equação 44 os seguintes passos foram seguidos:

Passo 1: Identificação das reações que ocorrem nos sistemas

Consumo do ácido acético:



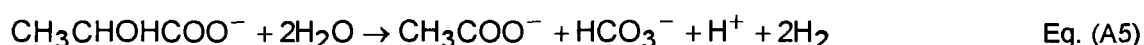
Consumo do ácido propiônico



Consumo do ácido butírico:



Consumo do ácido láctico



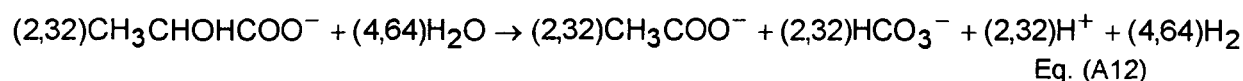
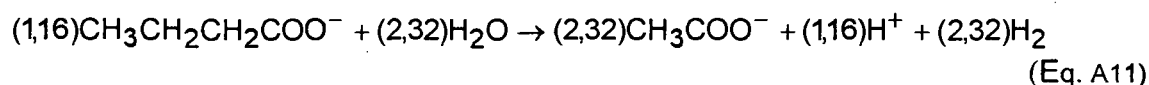
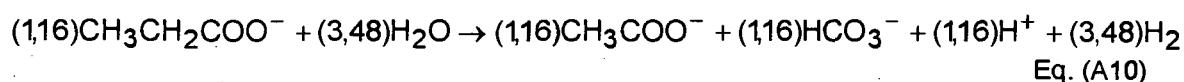
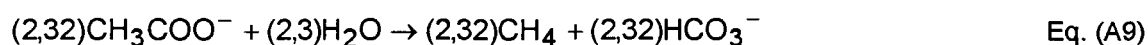
Consumo do metanol

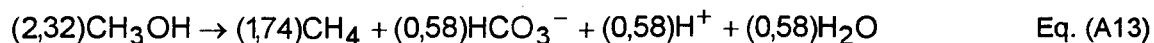


Equilíbrio do bicarbonato

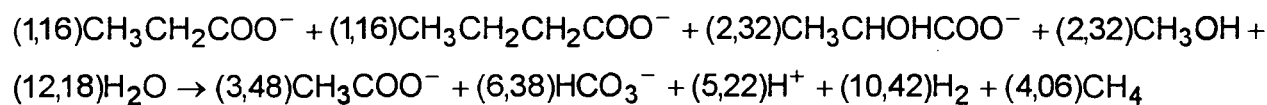


Passo 2 - Trabalhando com a estequiometria das reações, substituindo as quantidades disponíveis de cada componente:





Passo3: Obtenção da Equação A16, proveniente da soma da Equações A9, A10, A11, A12 e A13.

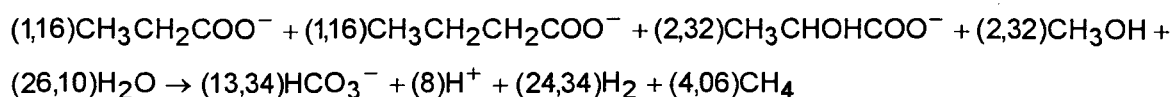


Eq. (A14)

Passo 4: Acertando os coeficientes da Equação A8, de modo que quando somada a Equação A14, desapareça a quantidade de ácido acético.



Passo 5: Obtenção da Equação A16, pela soma da equação A14 com a equação A15.

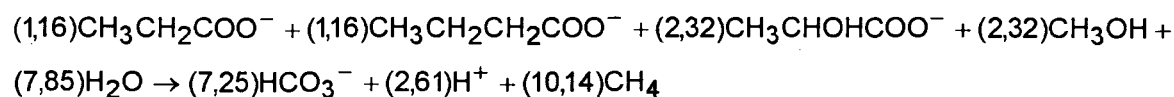


Eq. (A16)

Passo 6: Acertando os coeficientes da Equação A7 de forma a quando somada Equação A16 a A17, anule a quantidade de gás hidrogênio.



Passo 7: Somando-se as Equações A16 e A17, obtêm-se a Equação Final.



Eq. (A18) \equiv Eq.(44)

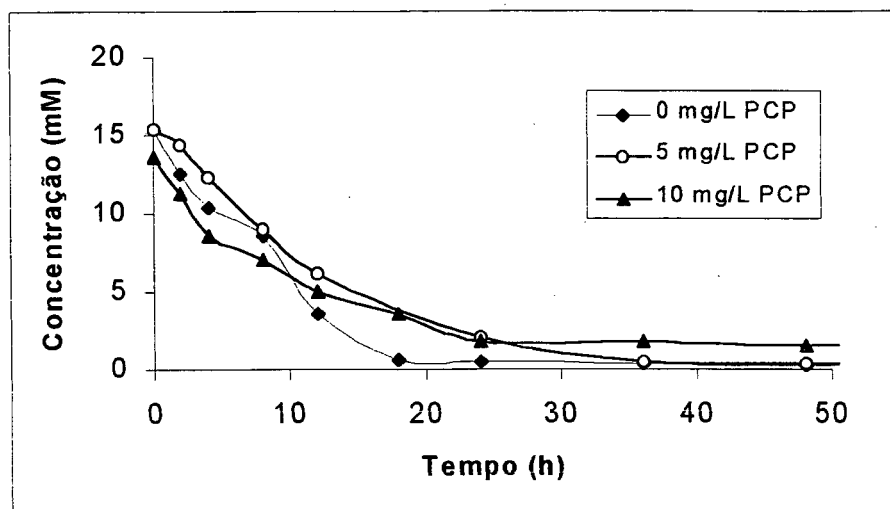
ANEXO 3:**Outra forma de expressar os resultados do teste cinético**

Figura A3.1 - Consumo do ácido acético para ensaios contendo 0, 5 e 10 mg/l de PCP.

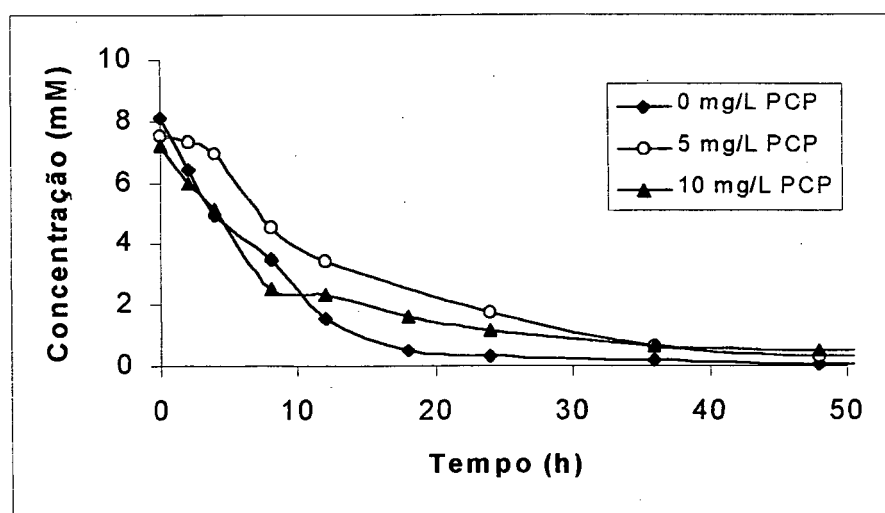


Figura A3.2 - Degradação do ácido butírico para os ensaios com 0, 5 e 10 mg/l de PCP.

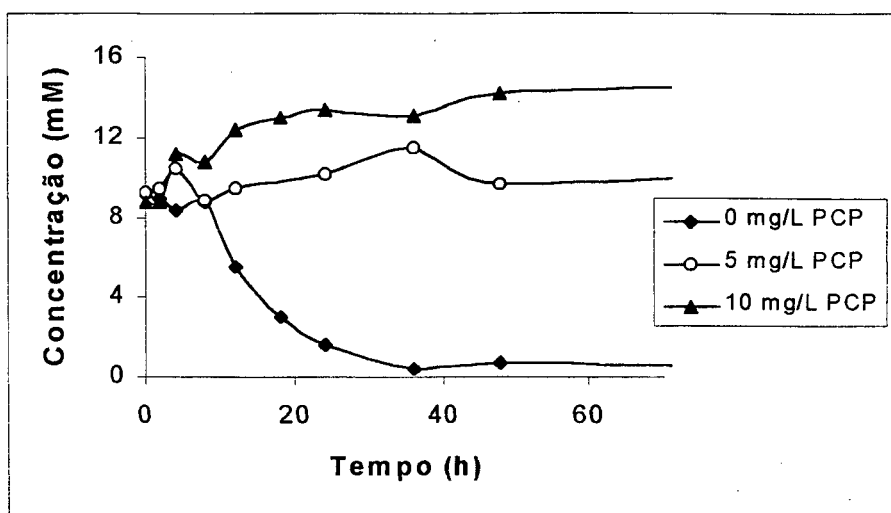


Figura A3.3 – Degradação do ácido propiônico para os ensaios contendo 0, 5 e 10 mg/l de PCP.

ANEXO 4:

Verificação do comportamento das curvas de produção de biogás para os diferentes ácidos e ensaios.

(a) Análise da produção de biogás no ensaio controle.

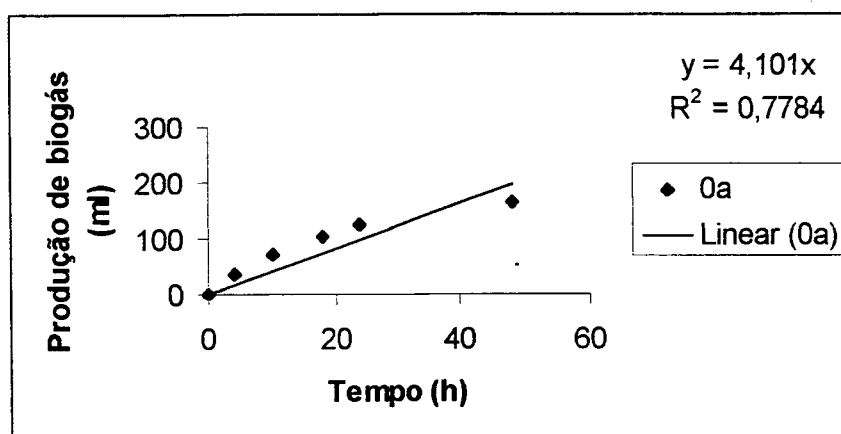


Figura A4.1 – Produção de biogás no ensaio controle alimentado com ácido acético.

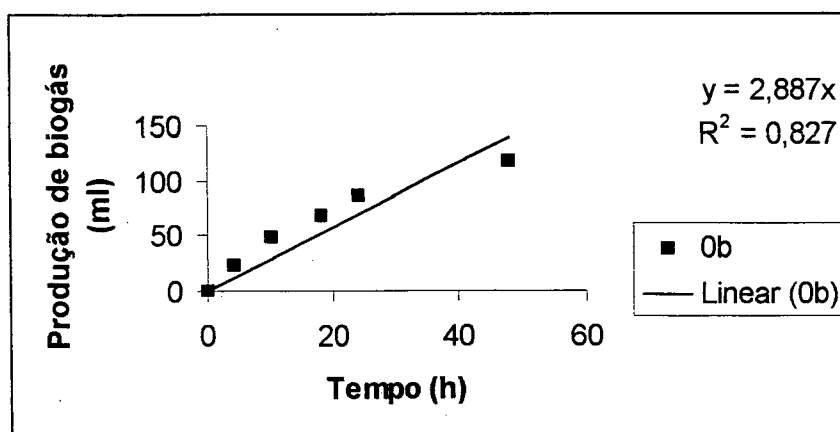


Figura A4.2 – Produção de biogás no ensaio controle alimentado com ácido butírico.

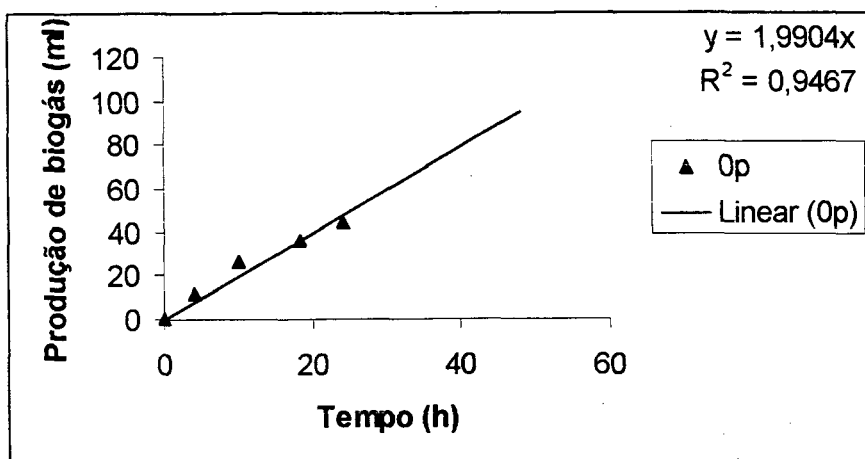


Figura A4.3 – Produção de biogás no ensaio controle alimentado com ácido propiônico.

(b) Análise para ensaios alimentados com 10 mg/l de PCP

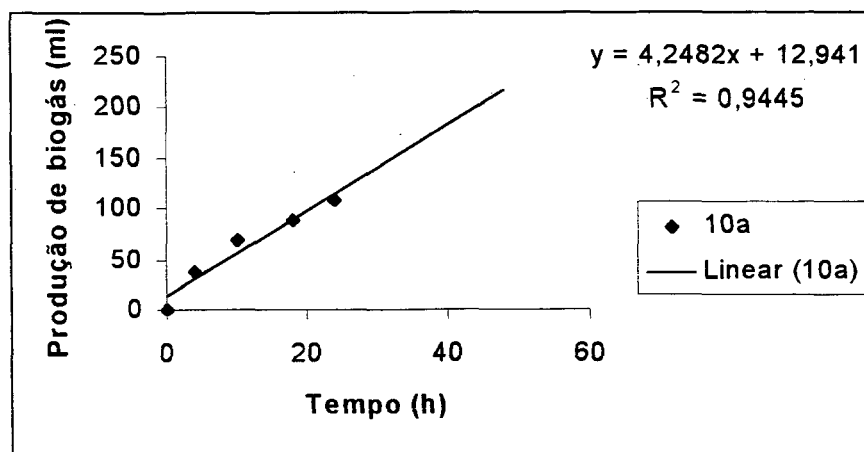


Figura A4.4 – Produção de biogás no ensaio com 10 mg/l, alimentado com ácido acético.

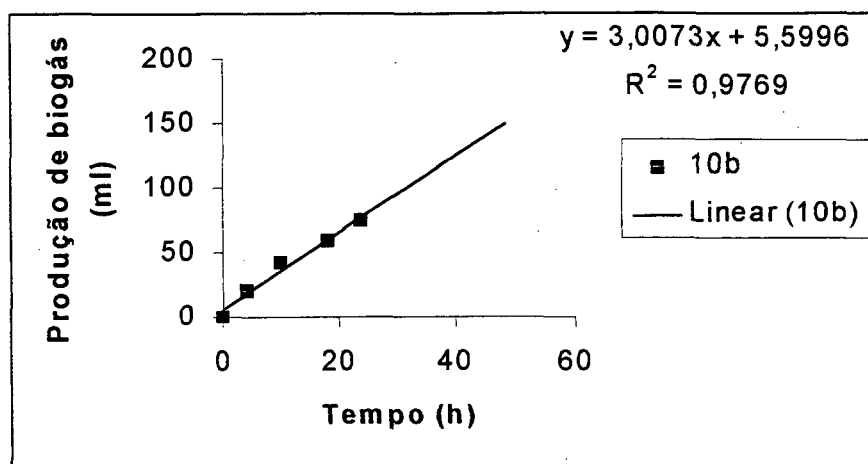


Figura A4.5 – Produção de biogás no ensaio com 10 mg/l, alimentado com ácido butírico.

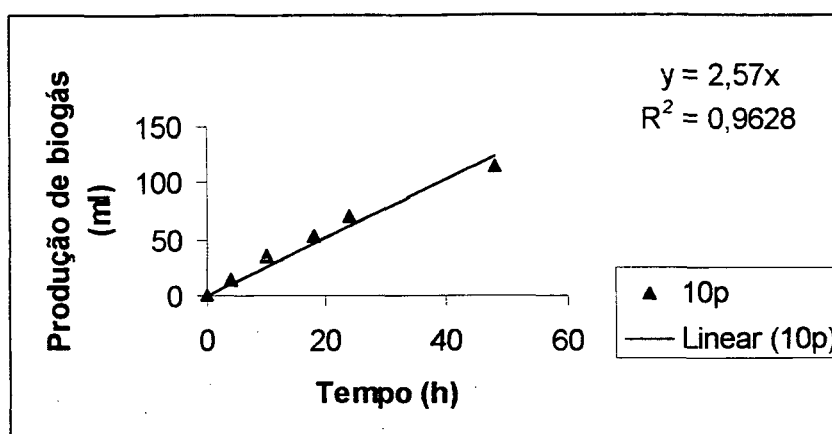


Figura A4.6 – Produção de biogás no ensaio com 10 mg/l, alimentado com ácido propiônico.

ANEXO 5:

**Obtenção da constante cinética de primeira ordem nos ensaios
contendo ácido acético e ácido butírico**

As Tabelas A.5-1 e A.5-2 apresentam os resultados obtidos pelo ajuste dos dados experimentais às diferentes cinéticas testadas.

Tabela A.5-1 – Ajuste dos dados experimentais à cinéticas de ordem zero, um e dois.

<i>Ajuste dos dados cinéticos</i>				
Correlação Linear	0A	0B	10A	10B
n = 0	0,926	0,992	0,956	0,866
n = 1	0,969	0,999	0,993	0,994
n = 2	0,894	0,969	0,882	0,887
Monod				
Constantes Cinéticas, k_1 e k_2	0A	0B	10A	10B
n = 1	0,048	0,037	0,051	0,038
n = 2	0,029	0,003	0,024	0,002
Monod				

Tabela A.5-2 – Aplicação da cinética de Michaelis-Menten aos dados experimentais.

<i>Cinética de Michaelis-Menten</i>				
Correlação Linear	0A	10A	0B	10B
	0,93	0,96	0,99	0,87
Parâmetros cinéticos				
Ks	0,00	0,00	0,00	0,00
Mimax	2,00	1,82	0,51	0,54

Desta forma, pela análise dos resultados, optou-se por representar o fenômeno por uma cinética de primeira ordem. As curvas construídas para a obtenção da constante cinética de primeira ordem são apresentadas a seguir.

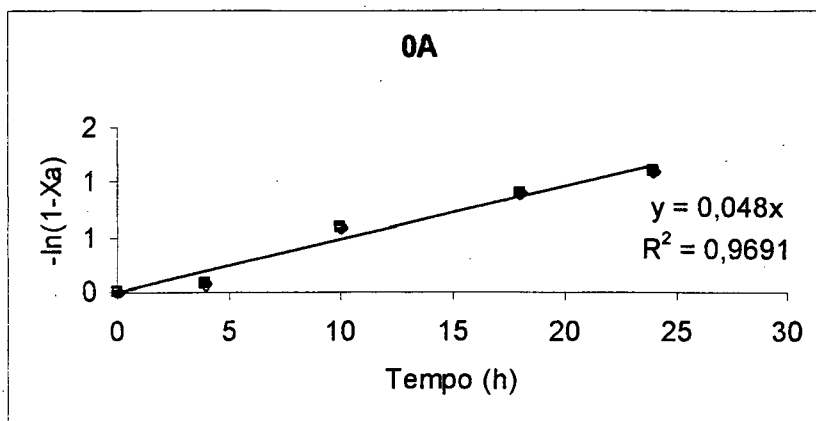


Figura A5.1 – Aplicação do modelo cinético de primeira ordem ao ensaio contendo 0 mg/l de PCP e ácido acético.

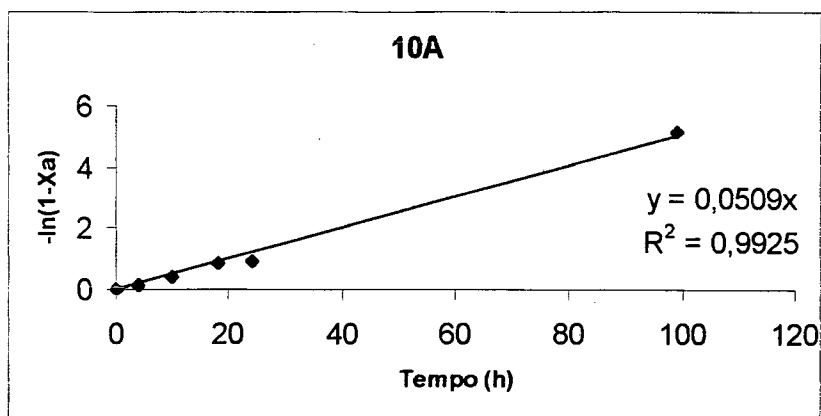


Figura A5.2 – Aplicação do modelo cinético de primeira ordem ao ensaio contendo 10 mg/l de PCP e ácido acético.

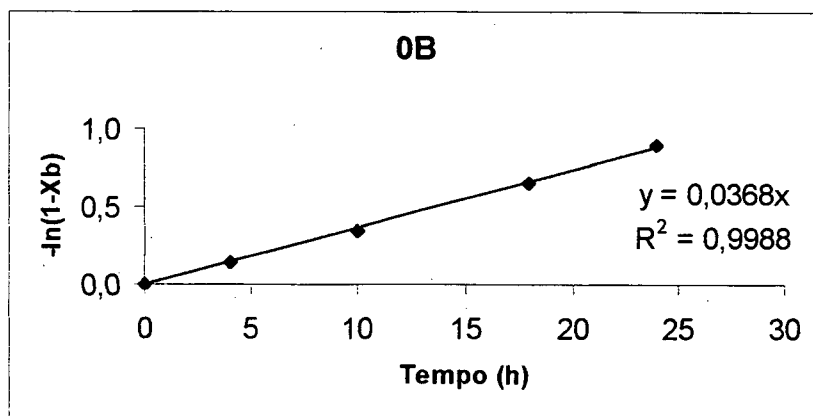


Figura A5.3 – Aplicação do modelo cinético de primeira ordem ao ensaio contendo 0 mg/l de PCP e ácido butírico.

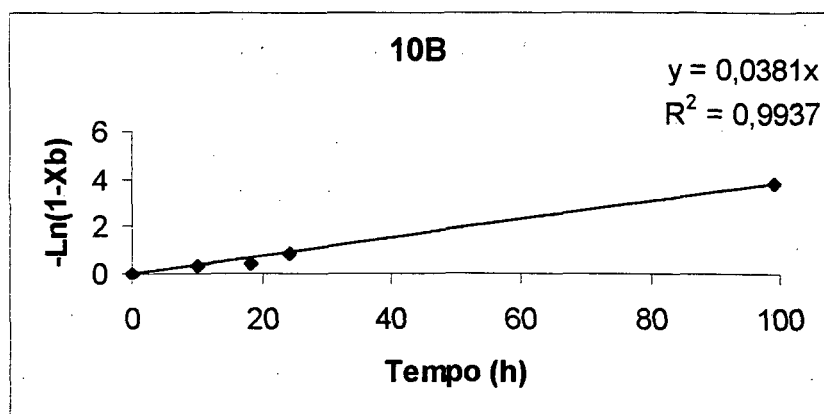


Figura A5.3 – Aplicação do modelo cinético de primeira ordem ao ensaio contendo 10 mg/l de PCP e ácido butírico.